

FAMY-AMYL-FAMY Norrbotten

2019

Forskarrapport

Projektledare:

Professor Elisabeth Sauer-Eriksson

Institutionen för Kemi

Umeå universitet

90187 Umeå

Tel: 090-7865923

Hemsida: <http://www.biostruct.umu.se>

E-mail: elisabeth.sauer-eriksson@umu.se

Cryo-EM studier av amyloidfibrer

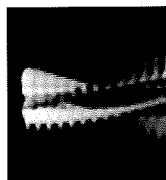
Felveckning i det humana plasma proteinet transthyretin (hTTR) leder till bildandet av långa olösliga amyloidfibrer som orsakar sjukdom. För att detta ska ske måste hTTRs tetrameriska struktur brytas ner till enskilda monomerer. Dessa felveckade monomerer utgör grundstenarna i uppbyggnaden av amyloidfibern.

Vi startade ett nytt projekt 2018 där vi studerar amyloida fibrer av hTTR med den nya tekniken cryo-EM. Det är min post-doktor Irina Iakovleva som arbetar på det projektet. Jag har nu lyckats förlänga hennes tjänst med ytterligare 2 år, dvs fram till slutet av 2021, som 1:e forskningsingenjör, så att hon kan avsluta projektet.

Under 2019 har vi gjort flera större framsteg. Vi arbetar på cryo-EM strukturstudier på två separata prover av TTR amyloidfibrer. Det ena provet består av fibrer av TTR mutanten V30M, som Irina framställer rekombinant och renar fram under fysiologiska betingelser. Det andra provet består av fibrer framrenat från patientmaterial, närmare bestämt vätska från ögats glaskropp. Det sista projektet gör vi i samarbete med Intissar Anan.

Irina har nu renat fram användbart material samt samlat in högupplöst cryo-EM data från båda proverna. Hon arbetar nu med att utvärdera cryo-EM bilderna. Det ligger mycket arbete bakom detta då de programvaror som finns tillgängliga för cryo-EM analys ännu inte är så utvecklade för analys av just fibermaterial. I vilket fall som helst är vi nu inne i ett mycket spännande skede av båda projekten:

I bilden till höger ser vi den första 3D strukturen på det rekombinanta materialet. Analysen är fortfarande preliminär men vi hoppas få det färdigt under 2020. Från vår preliminära 3D struktur kan vi dock tydligt se hur fibern är uppbyggd av beta-strängar och hur dessa strängar binder samman i långa beta-flak med en, för amyloidfibrer, karakteristisk twist. Upplösningen på strukturen ligger på 5-6 Å vilket fortfarande är för lågt för att man skall kunna identifiera individuella aminosyror. Vår mål är att under 2020 kunna förbättra upplösningen till närmare 3 Å.



3D

Under mars månad 2020 kunde vi göra den första datasamlingen på fibermaterial från glaskroppen (öga). Materialet ser väldigt lovande ut och Irina har därför redan börjat att processera detta material. Fördelen här är att fibrerna vi lyckats renat fram från glaskroppen är mycket rakare än fibrerna vi erhållit från vårt rekombinanta material. Detta gör att 2D klassificeringen blir tydligare. Det ska bli otroligt spännande att se den beräknade 3D strukturen från detta material.