

Kryo-EM studier av amyloidfibrer

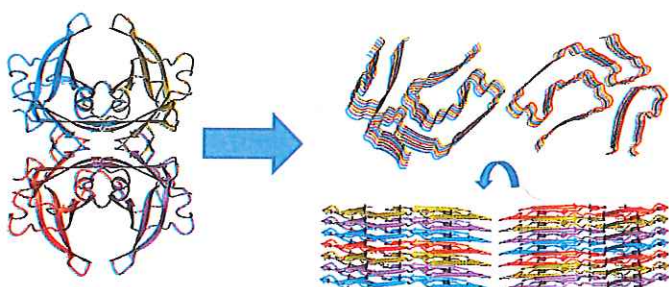
Felveckning i det humana plasma proteinet transthyretin (hTTR) leder till bildandet av långa olösliga amyloidfibrer som orsakar sjukdom. För att detta ska ske måste hTTRs tetrameriska struktur brytas ner till enskilda monomerer. Dessa felveckade monomerer utgör grundstenarna i uppbyggnaden av amyloidfibern.

Vi startade ett nytt projekt 2018 där vi studerar amyloida fibrer av hTTR med den nya tekniken kryo-EM. Det är min ingenjör Irina Iakovleva som arbetar på det projektet och vi gör det i samarbete med Intissar Anan vid institutionen för folkhälsa och klinisk medicin, och Michael Hall och Linda Sandblad vid UCEM enheten vid Umeå universitet.

Under 2020-2021 har vi gjort flera stora genombrott. Vi arbetar på kryo-EM strukturstudier på två separata prover av TTR amyloidfibrer. Det ena provet består av fibrer av TTR mutanten V30M, som Irina framställer rekombinant, dvs i provröret, och renar fram under fysiologiska betingelser. Det andra provet består av fibrer framrenat från patientmaterial, närmare bestämt den geléaktiga vätska som utgör ögats glaskropp. Det är ansamlingen av dessa amyloidfibrer i glasgruppen som gör att synen gradvis försämras för vissa FAP patienter – det blir grumligt.

Irina har under 2020 renat fram användbart material samt samlat in högupplöst kryo-EM data från båda proverna och under 2021 lyckades hon lösa strukturen på fibrer framrenade från glaskroppen till en upplösning där vi kan särskilja atomerna. Vi är mycket tacksamma för materialet som kommer från en FAP patient boende i norra Sverige.

Det ligger mycket arbete bakom att lösa fiberstrukturer av proteiner då de programvaror som finns tillgängliga för kryo-EM studier ännu inte är så utvecklade för analys av just fibermaterial. Som jag tidigare har rapporterat så har Irina gjort ett fantastiskt arbete.



Till vänster ser vi strukturen av de 4:a proteinkedjorna i den lösliga tetrameriska formen av TTR. När en fiber bildas dissocierar tetrameren, och kedjorna packas om till platta strukturer som packas på varandra. Bilden till höger visar två orienteringar av fibern med 2-protofilament - uppifrån och från sidan. Varje protofilament består här av sju proteinkedjor.

I bilden ovan ser ni skillnaden i struktur mellan lösligt TTR som består av 4:a identiska proteinkedjor, och TTR i olösliga fibrer som består av tusentals proteinkedjor som veckat sig som platta diskar. En sådan disk utgör ett lager av fibern som sålunda byggs upp genom att lager på lager av proteiner staplas på varandra i ett så kallat protofilament. Sedan kan två protofilament vrida sig runt varandra för att bilda en mer mogen fiber. Vad som är extra intressant är att strukturen ovan liknar en tidigare bestämd struktur på amyloidfiber extraherade från hjärtat, men den är inte identisk. Så tydligen kan hTTR variera sin fiberstruktur beroende på i vilket organ den tillverkas.

Under 2021 presenterade vi våra resultat i den ansedda tidskriften Nature communications (Iakovleva, I., Hall, M., Oelker, M., Sandblad, L., Anan, I., Sauer-Eriksson, A.E. "Structural basis for transthyretin amyloid formation in vitreous body of the eye", 2021, 12(1), 7141). Till vår glädje så fick våra resultat stor uppmärksamhet i både press och media. Den nya kunskapen öppnar möjligheter att framställa läkemedel som inte bara förhindrar att fibrerna uppstår, utan även kan användas för att lösa upp redan bildade fibrer. För framtiden avser vi att fortsätta arbetet med att karakterisera hTTR amyloidfibrer som byggs upp av olika antal protofilament. Just nu arbetar vi med strukturen av ögonfibrer uppbyggda av endast ett protofilament.