

A β peptide in familial Alzheimer's disease

from aggregation kinetics to fibril structure

Doctoral Thesis

Author(s):

Ovchinnikova, Oxana Yurievna

Publication date:

2011

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-007129359>

Rights / license:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

Diss. ETH No. 19996

**A β PEPTIDE IN FAMILIAL ALZHEIMER'S DISEASE: FROM
AGGREGATION KINETICS TO FIBRIL STRUCTURE**

DISSERTATION

Submitted to

ETH ZURICH

for the degree of

DOCTOR OF SCIENCES

presented by

Oxana Yurievna Ovchinnikova

Dipl. Biochem. Lomonosov Moscow State University

born on May 11, 1985

citizen of Russian Federation

accepted on the recommendation of:

Prof. Dr. Rudi Glockshuber, examiner

Prof. Dr. Roger Nitsch, co-examiner

Prof. Dr. Frédéric Allain, co-examiner

2011

Chapter 1

Summary/Zusammenfassung

1.1 Summary

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder characterized by cerebral deposition of amyloid fibrils formed by the amyloid- β peptide ($A\beta$). $A\beta$ has a length of 39-43 amino acid residues; the predominant $A\beta$ isoforms are $A\beta$ 1-40 and $A\beta$ 1-42. While the majority of AD cases occur spontaneously, a subset of early-onset familial AD (FAD) cases have a strong link to mutations in the genes encoding the $A\beta$ precursor protein or the presenilins 1 or 2. Recently, the deletion of glutamic acid at position 22 within the $A\beta$ sequence (E22 Δ) was identified in Japanese patients with familial dementia, but the aggregation properties of the deletion variant of $A\beta$ are not well understood.

The first part of the thesis describes the investigation of the aggregation characteristics and neurotoxicity of recombinantly expressed $A\beta$ isoforms 1-40 and 1-42 with and without the E22 Δ mutation. It is demonstrated that the E22 Δ mutation strongly accelerates fibril formation of $A\beta$ 1-42 E22 Δ compared to $A\beta$ 1-42 wild type (wt). In addition, fibrils of $A\beta$ 1-40 E22 Δ form a unique quaternary structure characterized by a strong tendency to form fibrillar bundles and an increased fluorescence quantum yield of fibril-bound thioflavin T. $A\beta$ 1-40 E22 Δ is neurotoxic in rat primary neuron cultures as compared to non-toxic $A\beta$ 1-40 wt. $A\beta$ 1-42 E22 Δ is less toxic than $A\beta$ 1-42 wt, but it significantly decreases neurite outgrowth per cell in neuronal primary cultures. Because $A\beta$ 1-40 is the major $A\beta$ form *in vivo*, the gain of toxic function caused by the E22 deletion may explain the development of FAD in mutation carriers.

In the second part of the dissertation, the complete sequential resonance assignment for $A\beta$ 1-40 E22 Δ fibrils is presented. Highly pure preparations of the recombinant ^{13}C - and ^{15}N -labelled $A\beta$ 1-40 E22 Δ were produced in order to generate the [U - ^{13}C , ^{15}N], mixed

[$U\text{-}^{13}\text{C}$]/[$U\text{-}^{15}\text{N}$], and [$U\text{-}^{13}\text{C}$]-labelled fibrils. Sufficient quantity, and, even more crucial, quality and homogeneity of the fibrils allowed us to predict localization of β -strands and determine β -sheets contacts between A β 1-40 E22 Δ monomers in the fibrils. A β 1-40 E22 Δ fibrils consist of parallel in-register β -sheets, and all regions of the peptide are rigid in the fibrils, including the N-terminal part that is believed to be flexible in A β wt fibrils. Furthermore, A β 1-40 wt can adopt the conformation of A β 1-40 E22 Δ fibrils when seeded with catalytic amounts of sonicated preformed fibrils. Alike A β 1-40 E22 Δ fibrils, reorganized A β 1-40 wt fibrils have a high tendency to form fibrillar bundles. Therefore, A β 1-40 E22 Δ ‘seeds’ act as a template for A β 1-40 wt peptide, converting it to an alternative structure in a prion-like fashion. Our data represent direct evidence for the existence of amyloid strains in AD.

1.2 Zusammenfassung

Die Alzheimer Krankheit (AD) ist eine neurodegenerative Fehlfunktion die durch die Ablagerung von Amyloid Fibrillen im Hirngewebe gekennzeichnet ist. Den Hauptbestandteil dieser Fibrillen stellen Amyloid- β -Peptide dar, welche eine Länge von 39-43 Aminosäuren aufweisen können, wobei A β 1-40 und A β 1-42 die Hauptisoformen darstellen. Während die Mehrheit der Krankheitsfälle spontan eintritt, wird ein kleiner Teil von früh einsetzender, familiärer AD durch Mutationen innerhalb der Gene verursacht, die das Amyloid- β -Vorläuferprotein, oder die Proteasen Presenilin 1 und 2 codieren. Vor kurzem wurde in Japan bei Patienten mit familiärer Demenz innerhalb der A β -Sequenz die Deletion von Glutaminsäure in Position 22 identifiziert. Bisher ist jedoch der Einfluss dieser Mutation auf die Aggregationseigenschaften des A β -Peptides kaum untersucht und wenig verstanden.

Der erste Teil dieser Arbeit beschreibt die Untersuchung des Aggregationsverhaltens und der Neurotoxizität der rekombinant hergestellten Isoformen A β 1-40 und A β 1-42 sowie der Mutationen A β 1-40 E22 Δ und A β 1-42 E22 Δ . Es wird gezeigt, dass die E22 Δ Mutation die Fibrillenbildung von A β 1-40 E22 Δ im Vergleich zum A β 1-40 Wildtyp (wt) stark beschleunigt. Darüberhinaus bilden Fibrillen aus A β 1-40 E22 Δ eine besondere Quartärstruktur. Gekennzeichnet sind diese Fibrillen durch eine hohe Tendenz zur Bildung

von Fibrillenbündeln sowie durch ein stark erhöhtes Fluoreszenzsignal des fibrillenbindenden Farbstoffs Thioflavin T. Verglichen mit dem nicht neurotoxischen A β 1-40 wt wirkt A β 1-40 E22 Δ toxisch auf Kulturen von primären Rattenneuronen. Im Vergleich zum A β 1-42 wt ist A β 1-42 E22 Δ hingegen weniger neurotoxisch, verringert aber deutlich die Länge der Neuriten in kultivierten Rattenneuronen. Da A β 1-40 *in vivo* die A β -Hauptkomponente darstellt, könnte die erhöhte Toxizität welche durch die E22 Deletion hervorgerufen wird die Ausbildung der familiären Alzheimer Krankheit bei Personen die diese Mutation tragen erklären.

Im zweiten Teil der Dissertation wird die vollständige, sequentielle Zuordnung der Kernspinresonanzsignale für A β 1-40 E22 Δ präsentiert. Hierfür wurde hochreines rekombinantes ^{13}C - und ^{15}N -markiertes A β 1-40 E22 Δ hergestellt um $[U\text{-}^{13}\text{C}, U\text{-}^{15}\text{N}]$ -, gemischte $[U\text{-}^{13}\text{C}]/[U\text{-}^{15}\text{N}]$ - und $[U\text{-}^{13}\text{C}]$ -markierte Fibrillen zu generieren. Die Menge und vor allem die hohe Reinheit und Homogenität der so erhaltenen Fibrillen erlaubte es uns, die β -Stränge zu lokalisieren und die β -Faltblattkontakte zwischen den A β 1-40 E22 Δ Monomeren innerhalb der Fibrillen zu bestimmen. Die Ergebnisse zeigen, dass die A β 1-40 E22 Δ Fibrillen aus parallelen β -Faltblättern bestehen. In den Fibrillen sind sämtliche Regionen des A β -Peptides rigide, einschliesslich des N-terminalen Bereichs, von dem angenommen wird dass er in Fibrillen des A β 1-40 Wildtyps flexibel ist. Desweiteren wird gezeigt, dass A β 1-40 wt die Konformation der A β 1-40 E22 Δ Fibrillen annehmen kann, wenn A β 1-40 wt mit katalytischen Mengen sonifizierter A β 1-40 E22 Δ Fibrillen angeimpft wird. Genau wie die A β 1-40 E22 Δ Fibrillen zeigen die so induzierten A β 1-40 wt Fibrillen eine hohe Tendenz zur Ausbildung fibrillärer Bündel. Offenbar wirken dabei die in katalytischer Menge eingesetzten A β 1-40 E22 Δ Fibrillen wie ein Kristallisationskeim und dienen als Templat für die A β 1-40 Peptide, die so, ähnlich wie es für Prionen bekannt ist, in eine alternative Struktur überführt werden. Diese Ergebnisse stellen einen direkten Hinweis für die Existenz von unterschiedlichen Amyloidformen im Zusammenhang mit der Alzheimer Krankheit dar.