

Transthyretin, funktion och dysfunktion – risker och möjligheter med suppression/knock-out

Sammanfattning

Denna ansökan är uppdelad i två områden som på olika sätt representerar de pågående och ev. framtida behandlingar riktade mot TTR inkl. där vi behaktar både möjligheter och potentiella problem. Ansökan är uppdelad i dessa två delar: (i) möjligheten att stänga av genen för proteinet transthyretin med CRISPR/Cas9 teknik (ii) vilka konsekvenser avstängning/suppression möjligen kan få vad gäller transthyretins normala funktioner. Båda frågorna är kontroversiella och vad gäller en specifik suppression av genen för transthyretin så görs detta redan idag via de olika RNA baserade behandlingsmetoder som pågår.

(i). Genterapi är ett område på stark frammarsch och alternativa metoder växer fram i en hög takt. Min grupp hade redan vid förra årets ansökan intiterat försök att med CRISPR/Cas9 stänga av uttrycket för transthyretin i vuxna djur. Approchen gick ut på att editera uttrycket i varenda lever cell. Vi hade då även erhållit de första resultaten som pekade på att vi kunde nå en 25% nedtryckning. Ett bra resultat men inte tillräckligt. En kort tid efter presenterade dock en annan forskargrupp en i princip identisk approach där de visade att man lyckats stänga ned uttrycket i vuxna djur med upp till 97%. Valet av en annan PAM sekvens avgjorde, en sekvens som vi valt bort pga sidoeffekter. Trots det så är det fantastiska resultat och även om vi nu inte blev först den här gången så är det hela ändå glädjande då det visar på metodens potential. Att stänga ned uttrycket i lever permanent är alltså möjligt och vårt projekt tar nu därför en ny riktning där vi istället fokuserar på uttrycket av TTR i ögat med motsvarande approach. Detta är också av terapeutiskt intresse då amyloida depositioner av TTR kan orsaka grumligheter och nedsatt synförmåga och där ögat har en egen produktion av TTR som inte nås via behandling mot lever. Här har min grupp tillsammans med Intissar Anan från Medicin Umeå univ. (båda huvudsökande) erhållit ett tvåårigt anslag om en post-doc tjänst från Wallenbergs stiftelse för detta ändamål och en person kommer inom kort att anställas.

(ii). Ovanstående metod är lockande men innebär alltså en permanent avstängning av genen. Här finns både möjligheter och potentiella problem. Proteinets transthyretin har en naturlig funktion i kroppen som man idag inser ligger bortom att bara transportera thyroxinhormon och (indirekt) vitamin-A. Ett mycket intressant och möjligen ännu viktigare område ligger i proteinets förmåga att förhindra andra amyloidossjukdomar. Det här kan tyckas paradoxalt men TTR var ett av de första proteiner som upptäcktes kunna modifiera amyloidbildning vid Alzheimers sjukdom, en upptäckt som gjordes redan på 90 talet.

Vi har här fokuserat på hur TTR påverkar den så kallade A β peptiden (Alzheimers sjukdom) men även vad gäller utveckling av diabetes typ II som också innehåller en amyloid komponent där vi misstänker att TTR är inblandat. Vi kan här presentera helt nya rön på att TTR troligen har en viktig roll att spela i detta sammanhang och även hur dess inhiberande förmåga balanseras mot dess egen benägenhet att bilda amyloid själv. En möjlig förklaring till den labila stabilitet som finns inneboende i proteinet och varför proteinet trots detta överlever i den evolutionära selektion som annars eliminerar dessa fenomen.

(i). Knock-out av TTR-genen

Idag kan man med så kallad RNA interference och RNA silencing, effektivt trycka ned tillverkningen av TTR i kroppen och metoden är godkänd i människa [1-3]. En sådan behandling innebär att nivåerna av

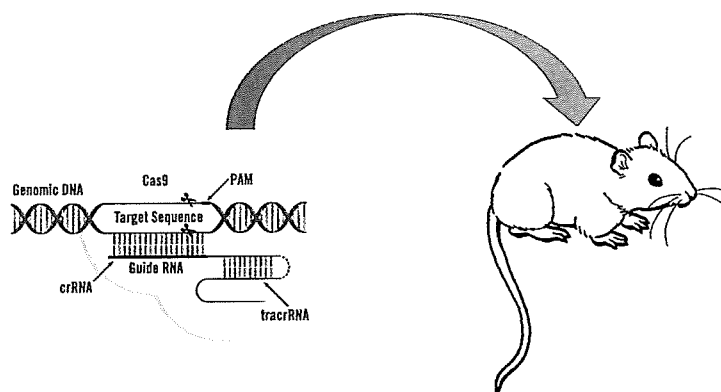
TTR temporärt går ned för att sedan succesivt återgå till dess normala koncentration. Proceduren måste upprepas och innebär en livslång och även mycket dyrbar behandling där RNA konstant måste tillföras till kroppen för att hålla nivåerna av proteinet på en låg nivå.

Mål (i) – knocka ut TTR produktionen i ögat på en musmodell

Vi har initierat ett projekt där vi avser att med modern DNA teknik istället permanent slå ut genen för TTR i ögat och genom detta helt eliminera sjukdomens möjlighet till vidare progression.

(i). Metodologi

Systemet bygger på en kombination av det nobelprismominerade systemet CRISPR/Cas9, utvecklat av Emanuelle Charpentier (Umeå universitet) och Jennifer Doudna, Berkley University Kalifornien, USA), samt adenovirusvektorer för överföring av genetiskt material. Fram tills för bara några år sedan var möjligheterna att modifiera DNA i celler begränsade. Genom upptäckten av CRISPR/Cas9 så kom dock oväntat en lösning. Upptäckten bygger på en mycket gammal försvarsmekanism som bakterier använder sig av för att skydda sig mot virus och består i princip av en "gensax" (Cas9) med förmåga att klippa i DNA. Gensaxar har dock varit känt mycket länge men det som är unikt med just denna "gensax" är att den kan bära med sig en adresslapp som berättar exakt var den ska klippa i genomet. Genom detta kan man nu selektivt välja exakt vilken gen man vill modifiera. Fig 1 visar schematisk dess aktivitet.



Figur 1. Schematisk illustration över CRISPR/Cas9 systemet. Genom en så kallad leader RNA sekvens så kan proteinet Cas9, med förmågan att klippa i DNA, riktas mot vilken gen som helst. När detta sker så leder det till ett dubbelsträngsbrott och när cellen därefter försöker reparera denna sätts 1-2 extra nukleotider vilket förstör genens möjlighet att bli ett protein och utgör mekanismen till systemets förmåga till inhibering av uttryck. Idag kan även ett aktivt fram-shift och stop av uttryck induceras genom att en DNA sätts in.

Aktiviteten ger ett dubbelsträngsbrott i DNA vilket är ett tillstånd som cellen direkt kommer att vilja reparera. När denna reparation sker så introduceras dock 1-2 nukleotider extra nukleotider i genomet. Detta leder till ett så kallat "frame-shift" i avläsningen och snart även till ett stopp i sekvensen. Gör detta i början på genen så förhindras uttrycket av resten av genen. I en nyligt presenterad studie visades att systemet kan slå ut 97% av uttrycket i lever i mus [4]

Adenovirus som vektor för att föra in DNA

Även om tekniken för att modifiera DNA nu på ett dramatiskt sätt förenklats så är all form av genterapi helt beroende av förmågan att leverera DNA till det önskade området i kroppen. För DNA överföring finns en annan möjlighet som bygger på virusvektorer där effektiviteten för upptag ofta når 100%. Man talar här om några olika sorters virus vektorer och här är Adenovirus (Ad) samt Adenovirus Associated Virus (AAV) troligen är de mest intressanta. Dessa utgör därför fokus för vårt arbete. Det bör poängteras att dessa virus saknar förmågan att infektera samt replikera sig och egentligen endast bör ses som behållare för det som skall levereras. TTR produceras i huvudsak i levern men även ögat samt

intressant nog i de insulinproducerande β -cellerna i pankreas vilket är något vi återkommer till lite längre fram. Då ögat och levern har var sin produktion så kommer terapier mot lever inte att nå ögat. Detta innebär problem då ett vanligt symptom är grumlingar i ögats glaskropp. Vi riktar nu våra insatser istället mot ögat och uttrycket av TTR här. Svårigheten att lyckas med dessa försök ligger främst i valet av den så kallade PAM sekvens som man kan säga motsvarar den adresslapp till genen man vill knocka ut. Genom det arbete som nyss presenterats så är valet av denna redan klar vilket innebär en mycket stor fördel! Det bör även förtydligas att vi har experthjälp vad gäller administrering av genetisk mtrl i ögat genom Gauti Johannesson, bitr universitetslektor, specialistutbildad läkare vid Institutionen för klinisk vetenskap Enhet: Professionell utveckling, Oftalmiatrik.

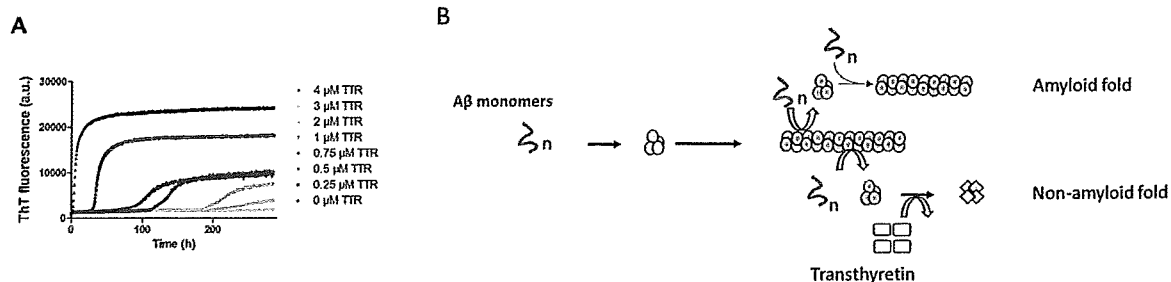
(ii). TTR och dess roll vid övriga amyloida sjukdomar

Våra approach att med genteknik slå ut proteinet TTR samt de idag pågående studierna att med RNAi samt antisense RNA sänka nivåerna av TTR innebär båda att man potentiellt påverkar naturliga funktioner av TTR. En potentiellt viktig aspekt som inte visar sig direkt vid en knock-out av proteinet TTR, är dess roll vid övriga amyloid sjukdomar. Detta kan till en början låta paradoxalt men TTR var ett av de första proteinerna som upptäcktes ha en amyloidinhiberande effekt vilket presenterades redan på 90 talet och man vet från djurmodeller att dess påverkan vid Alzheimers sjukdom är relativt stark [5]. Vi kan här visa hur TTR har en mycket potent effekt på IAPP associerat till diabetes typ II. Intressant nog så finner man TTR i de granula av pankreas β -celler som sekreterar IAPP vilket starkt tyder på att TTR är specifikt viktig även här.

Transthyretin vid Alzheimers sjukdom

Man har via ett större antal studier inklusive musmodeller idag funnit tydliga indikationer på att TTR har en skyddande effekt mot Alzheimers [6]. Vi har i min grupp under många år studerat A β peptiden då denna i likhet med TTR också är en amyloidogen peptid. Man vet även att TTR kan interagera med den peptid som resulterar i Alzheimers men inte hur detta går till. Vi ville utröna den molekylära mekanismen bakom detta och har nu nåt relativt långt med att förstå hur detta går till och vi lämnar nu för tillfället de amyloidogena egenskaperna för TTR och fokuserar på dess nativa form. Dessa kommer dock att knyts samman lite senare. Förklaringen skulle visa sig intressant.

A β peptiden aggregerar genom det man kallar för en nukleringsberoende mekanism. Detta innebär att en fibrill och dess polymeriserande natur måste utgå från en start-struktur även kallat kärna eller ett "nuklei". Bildning av amyloid runt ett nuklei kan liknas vid att bildning av iskristaller kan katalyseras av orenheter i vattnet. Resultatet i fallet A β är en mycket ordnad polymerisk struktur. Vi har utvecklat system för att studera hur fibrillbildning av A β kan påverkas av olika yttre stimuli. Här har TTR uppvisat mycket intressanta egenskaper. Figur 2A visar hur transthyretin effektivt förhindrar övergången från A β monomer till amyloid A β fibrill. Effekten är mycket stark och sker vid fysiologiska koncentrationer av TTR. Vår studie publicerades nyligen i J. Mol Biol. [7]. Fig 2B visar schematisk hur TTR selektivt binder oligomeriska nuklei och gör om dessa till icke-amyloida strukturer.



Figur 2. (A) Thioflavin kurva som illustrerar hur A β amyloid bildas. Notera dess sigmoida form vilken vve indikerar den exponentiella tillväxt som fås genom katalys av nya nukli från ytan på redan bildade fibriller. Notera hur den slutgiltiga plattån sänks samt hur tiden innan den exponentiella fasen initieras, förskjuts som funktion av TTR. Det

är här även viktigt att påpeka att i slutfasen är 100% av all A β aggregerad. En låg platå betyder alltså inte att A β inte aggregerat utan att aggregaten antagit en icke amyloidogen struktur. (B) Schematisk bild på förloppet.

Dessa resultat pekar på en mycket intressant inhiberande mekanism. Fascinerande nog så går alltså TTR mot det kanske mest relevanta målet för att åstadkomma en inhibering av A β fibrillbildning. Innebär en sänkning av TTR uttrycket härmed en risk?

Har TTR en roll vid diabetes typ II?

Vid diabetes typ II finner man en typ av amyloid från en peptid som kallas IAPP eller amylin. Denna uttrycks parallellt med insulin och har en roll i glukosmetabolismen. Det är här intressant att notera att TTR och IAPP/amylin finns lokaliserat tillsammans i de granula som frisätts från pankreas vilket pekar på en koppling. Vi kan här rapportera att TTR har en kraftigt inhiberande effekt också på amyloidbildning av IAPP/amylin associerat till diabetes typ II.

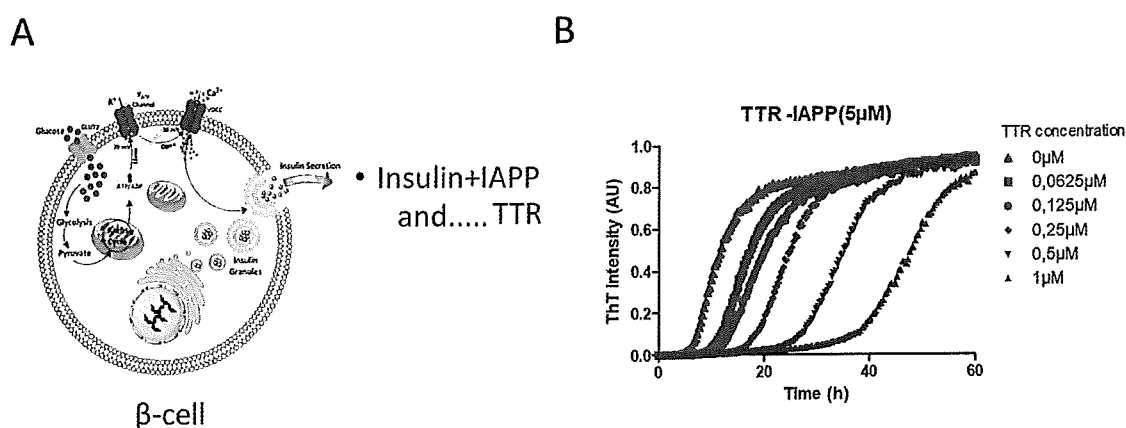


Figure 3. (A) Schematisk bild som illustrerar att TTR återfinns i de sekretoriska granula som frisätter IAPP samt insulin. (B) Thioflavin-T baserad analys för att följa amyloidbildning av IAPP/amylin. Notera hur TTR vid redan vid mycket låga koncentrationer kraftigt bromsar reaktionen och förskjuter lag-phase åt höger i bild.

Resultaten ovan uppvisar möjligen ytterligare en funktion för TTR i kroppen där den förutom att inhibera A β troligen specifikt förhindrar amyloidbildning av IAPP i dess sekretoriska granula. En analys av detta och mer specifikt frågan ifall inhibering av amyloidbildning sker inne i cellen eller utanför pågår för närvarande i ett samarbete med Gunilla Westermarck, Uppsala universitet där β -celler odlas i närvaro av höga glukosnivåer vilket ger ett kontrollerbart cell-system för amyloidbildning in vitro. Här kombinerar vi ett inducerat uttryck av mycket effektiva TTR varianter (vilka beskrivs nedan) med att addera proteinet externt. Detta kommer att besvara frågan om IAPP skapar sin amyloidform inne i cellen eller om detta sker efter sekretion.

Vilka egenskaper hos TTR ger den inhiberande effekten?

Tranthyretin har märkligt nog en inbyggd insatthet. En uppenbar anledning till detta kan inte ses bara utifrån TTR som transportör av T4 hormon och det hela resulterar i att även TTR wt bildar amyloid vilket dock vanligen sker vid en högre ålder.

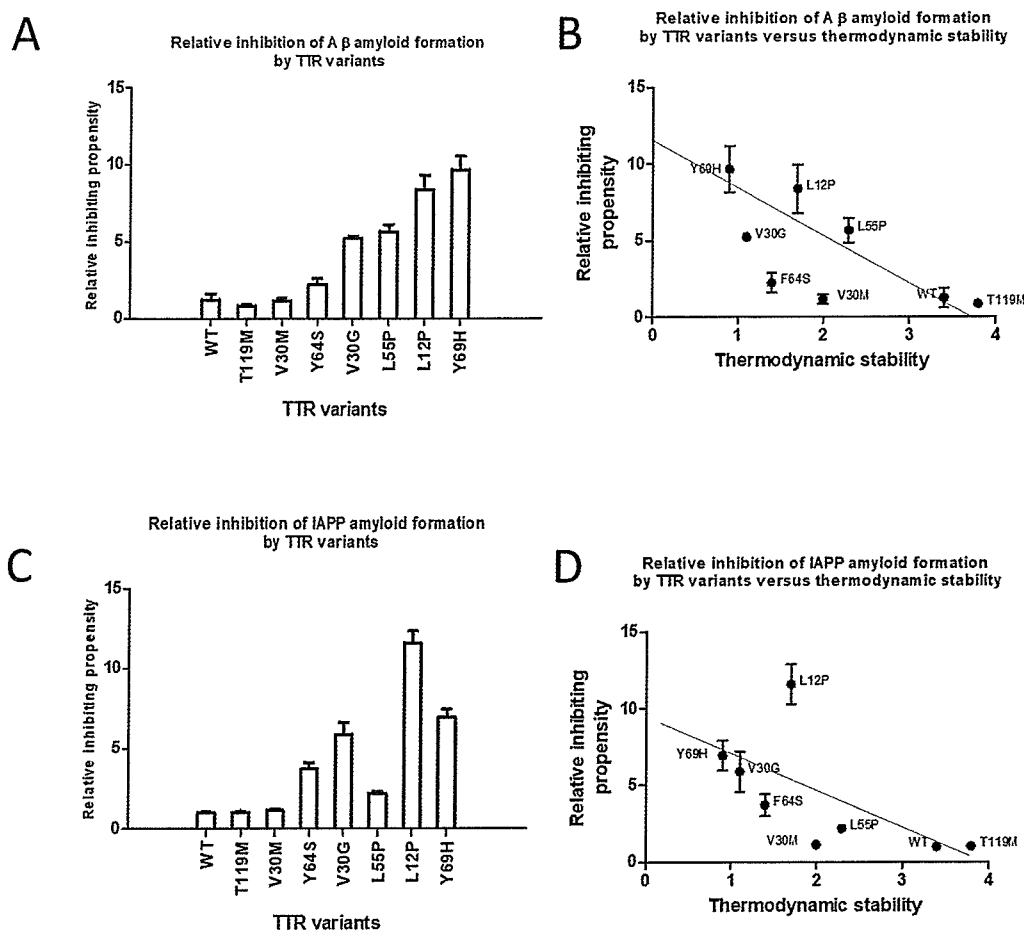
Vi har studerat om och hur stabilitetsegenskaperna hos TTR påverkar dess förmåga att inhibera A β och IAPP. Resultatet visade sig intressant då en korrelation kan ses till TTR och dess termodynamiska stabilitet. En ökad termodynamisk instabilitet påverkar dramatiskt förmågan att inhibera. Intressant ser vi även hur mekanismen mellan TTR och IAPP är mycket likartad, se Fig. 4A och 4B.

Inhibering av IAPP samt A β korrelerar med TTR molekylens instabilitet!

Genom att analysera förmågan hos TTR att inhibera A β och IAPP hos ett större antal olika mutanter med olika termodynamisk stabilitet så ser vi hur dess effekt varierar dramatiskt och vi kan notera hela 10X

ökad effektivitet hos vissa mutanter jämfört med TTR wt. Vi kan här konstatera att TTR wt har en blygsam aktivitet i sammanhanget och att även att det föreligger en korrelation mellan olika mutanter och dess förmåga att inhibera, se Fig. 4 A resp C.

För att vidare undersöka denna effekt så har vi analyserat proteinernas termodynamiska stabilitet och även här kan man se en korrelation. En minskad termodynamisk stabilitet ger en ökad förmåga att inhibera, se Fig. 4A resp D.



Fig

Figure 4. (A) Den relativa förmågan mellan olika TTR varianter att inhibera A β . (B) Den relativa förmågan att inhibera A β som funktion av termodynamisk stabilitet. (C) Den relativa förmågan att inhibera IAPP mellan olika TTR varianter. (D) Den relativa förmågan att inhibera IAPP som funktion av termodynamisk stabilitet.

Resultaten i Fig. 4 är intressanta och indikerar att en instabilitet i TTR molekylens förmåga är nödvändig för att kunna utföra en amyloidinhiberande effekt. Vi har nu även mutanter helt oförmögna att hämma amyloidbildning (visas ej här) vilka kommer att användas i vidare strukturella jämförande studier för att identifiera var på molekylens denna interaktion sker.

Den kinetiska stabiliteten är inte av vikt för inhibering av A β eller IAPP – TTR stabiliserande droger kan därmed användas utan risk

TTR och dess förmåga att bilda amyloid styrs till stor del av dess förmåga att dissociera och det är mot denna effekt som de terapeutiska drogerna diflunisal samt tafamidis inriktar sig. Nu inställer sig nästa fråga. Är en stabilisering av TTR i sig hämmande för dess förmåga att inhibera amyloidbildning? För att besvara denna så har vi jämfört den hämmande förmågan på A β och IAPP i närvaro av diflunisal. Resultatet kan ses i Fig. 5 och visar att den hämmande effekten är inte beroende av en dissocierad tetramer vilket är goda nyheter.

Närvaro av en TTR stabiliserare minskar nedbrytning av proteinet i kroppen och leder till en förhöjd koncentration i serum.

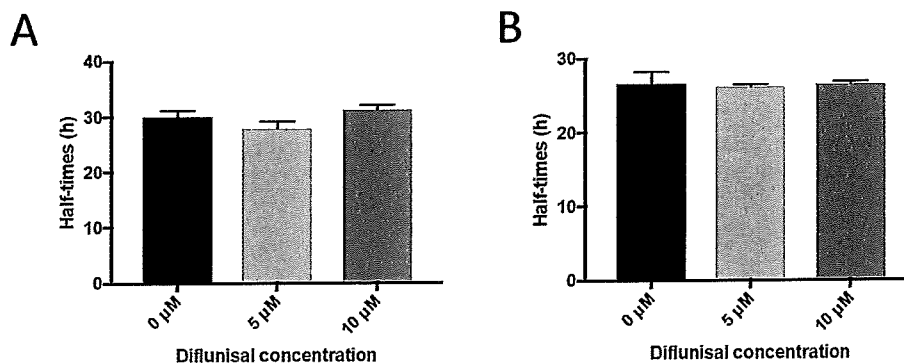


Figure 5. (A) Förmågan av TTR att hämma amyloidbildning av A β som funktion av diflunisal. (B) Förmågan av TTR att hämma amyloidbildning av IAPP som funktion av diflunisal.

Sammanfattning och framtida perspektiv

Programmet delas in i två delar där den först (i) utgörs av vår strategi för att släcka ut TTR genen i ögat hos möss. Jag anser att vi med detta projekt har goda möjligheter att utveckla en teknik för att slå ut uttrycket av TTR permanent. Förhoppningen är att utveckla en teknik för att selektivt släcka ut uttrycket i retina och därmed förhindra *vitreous* amyloid och grumlingar i ögats glaskropp. Implikationerna är mycket intressanta och ligger i framkant vad gäller genterapi.

Det är idag även uppenbart att TTR har funktioner som ligger bortom en enkel transportfunktion och en fascinerande egenskap är dess inhiberande effekt på andra amyloida proteiner. Här finns en tydlig koppling till amyloid β kopplad till Alzheimers sjukdom, där TTR har en skyddande effekt i musmodeller. Vi har löst den mekanistiska frågeställningen runt detta och kan peka på att TTR selektivt identifierar ett mycket intressant mål i Alzheimers sjukdoms patologi. Vi kan nu i preliminära resultat även visa att förmågan av TTR att inhibera A β korrelerar med dess stabilitet och kanske är detta förklaringen till varför ett potentiellt farligt protein är evolutionärt bevarat? Systemet öppnar för att identifiera de interaktionsytor som kontrollerar denna amyloidinhibering och, inte omöjligt, även förmågan hos TTR att själv bilda amyloid. Vi kan intressant nog visa att TTR kraftigt också lika kraftigt påverkar amyloidbildning av en peptid som benämns IAPP eller amylin och där dess amyloidbildning misstänkts inblandat i patologin runt utveckling av diabetes typ II. Korrelationen mellan A β och IAPP vad gäller effekten av TTR tyder på att mekanismen sannolikt är den densamma.

Ett viktigt fynd här är att förmågan med vilken TTR inhiberar A β och även IAPP påverkas inte av en stabilisering av tetrameren vilket pekar på att de stabiliserande drogerna som idag används terapeutiskt inte utgör någon risk.

Sammantaget anser jag att vi går en mycket spännande framtid till mötes med goda förhoppningar om att i en framtid kunna åstadkomma en signifikant påverkan på FAP och dess progression. Vi hoppas även kunna utreda potentiella risker med att ta bort alt. trycka ned dess uttryck vilket är studier som parallellt bör följa en modulering av transthyretins uttryck.

1. Sekijima Y. Recent progress in the understanding and treatment of transthyretin amyloidosis. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*. 2014;39(3):225-33. Epub 2014/04/23. doi: 10.1111/jcpt.12145. PubMed PMID: 24749898.
2. Coelho T, Adams D, Silva A, Lozeron P, Hawkins PN, Mant T, et al. Safety and efficacy of RNAi therapy for transthyretin amyloidosis. *The New England journal of medicine*.

- 2013;369(9):819-29. Epub 2013/08/30. doi: 10.1056/NEJMoa1208760. PubMed PMID: 23984729.
3. Niemietz C, Chandhok G, Schmidt H. Therapeutic Oligonucleotides Targeting Liver Disease: TTR Amyloidosis. *Molecules*. 2015;20(10):17944-75. Epub 2015/10/06. doi: 10.3390/molecules201017944. PubMed PMID: 26437390.
 4. Finn JD, Smith AR, Patel MC, Shaw L, Youniss MR, van Heteren J, et al. A Single Administration of CRISPR/Cas9 Lipid Nanoparticles Achieves Robust and Persistent In Vivo Genome Editing. *Cell Rep*. 2018;22(9):2227-35. Epub 2018/03/01. doi: 10.1016/j.celrep.2018.02.014. PubMed PMID: 29490262.
 5. Garai K, Posey AE, Li X, Buxbaum JN, Pappu RV. Inhibition of amyloid beta fibril formation by monomeric human transthyretin. *Protein Sci*. 2018;27(7):1252-61. Epub 2018/03/03. doi: 10.1002/pro.3396. PubMed PMID: 29498118; PubMed Central PMCID: PMC6032350.
 6. Xiang Q, Bi R, Xu M, Zhang DF, Tan L, Zhang C, et al. Rare Genetic Variants of the Transthyretin Gene Are Associated with Alzheimer's Disease in Han Chinese. *Molecular neurobiology*. 2016. doi: 10.1007/s12035-016-0065-2. PubMed PMID: 27562180.
 7. Nilsson L, Pamren A, Islam T, Brannstrom K, Golchin SA, Pettersson N, et al. Transthyretin Interferes with Abeta Amyloid Formation by Redirecting Oligomeric Nuclei into Non-Amyloid Aggregates. *J Mol Biol*. 2018;430(17):2722-33. Epub 2018/06/12. doi: 10.1016/j.jmb.2018.06.005. PubMed PMID: 29890120.

Kostnads kalkyl och Tidsplan

Forskningsplanen delas det här året in i två delar bestående av (i) våra försök att knocka ut TTR selektivt i ögats retina på en mus. Detta projekt har parallellt blivit beviljad 1 person (postdoc) under 2 års tid vilket bör vara mer än tillräckligt vad gäller tid. Kostnaderna här består i inköp av viruskonstruktioner samt djurhållning och förbrukningsvaror. Dessa kostnader är i sammanhanget ganska blygsamma och sätts till ca 75 tkr baserat på tidigare års kostnader.

- (i) Tidsplan 2 år – Running costs 75 000 kr

Den andra delen av projektet är idag inte finansierad fullt ut. Här avser vi avser att lösa den mekanism med vilken TTR inhiberar amyloid av IAPP samt A β och möjligen även hur TTR i detta sammanhang även bildar amyloid själv. Systemen för expression och analys är uppsatta och fungerar mycket väl. Här jobbar idag en postdoc på stipendium som går ut i april. Att kunna behålla den personen vore mycket önskvärt då det tar lång tid att lära upp någon på nytt. Här söker jag alltså medel främst för personal då de löpande kostnaderna även här är ganska blygsamma.

- (ii) Tidsplan 1 år – Personalkostnader 250 000 kr, löpande kostnader 50 000 kr.

Totalt ansökt belopp:

375 000 kr

Forskningsrapport över 2018

Risker och möjligheter med transthyretin suppression. Möjligheterna till effektiva behandlingar mot transthyretin (TTR) relaterad amyloidos har nog aldrig tidigare varit större och man attackerar idag problemet från flera olika håll. De RNA-baserade teknologier som nu utvecklas är mycket intressanta och ger en möjlighet att reducera koncentrationen av TTR i kroppen. Tillsammans med de stabiliserande substanser som utvecklats ger det goda möjligheter att bromsa sjukdomens förlopp. Vi har undersökt en teknik som också bygger på genterapi där vi använt den nya tekniken CRISPR/Cas9. Denna approach är permanent och behöver till skillnad från de RNA baserade metoderna inte upprepas. Vi har här lyckats reducera uttrycket av TTR med 25% i ett modellsystem baserat på mus. I en parallell rapport publicerades dock vårt upplägg före oss och man visar här på en inte mindre än 97% nedsläckning av TTR uttryck. Det är såklart synd att inte få vara först men i det här fallet är det ändå med en positiv känsla för det är nu visat att metoden fungerar vilket kan vara starten på en helt ny era för behandling av FAP. Vi går vidare med metoden för att nu släcka ut TTR i ögat. Här kan vi använda rön från publikationen som kommer att vara till avsevärd hjälp och vår chanser att lyckas kan inte bedömmas annat än goda.

Parallellt med att släcka ut TTR så undersöker vi funktionen av TTR som en amyloidinhibitor. Här har vår grupp nyligen lyckats visa att TTR specifikt inhiberar de mest toxiska sammansättningarna av A β , associerat till Alzheimers sjukdom. Arbetet med att förstå de mekanismer och den roll som TTR spelar vad gäller inhibering av andra amyloider är viktigt då de de terapeutiska metoder man idag applicerar går ut på att trycka ned uttrycket av TTR. Leder detta till utveckling av andra amyloidoser är frågan? Vi är svaret till detta på spåret vilket kan ses i årets ansökan där vi visar preliminära data på att även IAPP också kraftigt påverkas av TTR och att mekanismen sannolikt är densamma som vid A β .

Förra året resulterade i 5 vetenskapliga publikationer enligt nedan.

1. Interspecies Variation between Fish and Human Transthyretins in 2 Their Binding of Thyroid-Disrupting Chemicals. Jin Zhang, Christin Grundström, Kristoffer Brännström, Irina Iakovleva, Mikael Lindberg, **Anders Olofsson**, Patrik L. Andersson and A. Elisabeth Sauer-Eriksson
Environ Sci Technol. **2018 Oct 2.** doi: 10.1021/acs.est.8b03581.

2. Transthyretin Interferes with A β Amyloid Formation by Redirecting Oligomeric Nuclei into Non-Amyloid Aggregates. Nilsson L, Pamrén A, Islam T, Brännström K, Golchin SA, Pettersson N, Iakovleva I, Sandblad L, Gharibyan AL, **Olofsson A.**
J Mol Biol. **2018 Jun 8.** pii: S0022-2836(18)30581-3. doi: 10.1016/j.jmb.2018.06.005.

3. The Properties of Amyloid- β Fibrils Are Determined by their Path of Formation.
Brännström K, Islam T, Gharibyan AL, Iakovleva I, Nilsson L, Lee CC, Sandblad L, Pamrén A, **Olofsson A.**
J Mol Biol. **2018 Jun 22;430(13):1940-1949.** doi: 10.1016/j.jmb.2018.05.001.

4. Scanning Electron Microscopy as a tool for evaluating morphology of amyloid structures formed on Surface Plasmon Resonance chips. Kristoffer Brännströma, Anna L. Gharibyan, Tohidul Islama, Irina Iakovleva, Lina Nilsson, Cheng Choo Lee, Linda Sandblad, Annelie Pamren and **Anders Olofsson.**
Data in Brief, August 2018, Pages 1166-1170. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.05.129>

5. Amyloid-beta 1-40 is associated with alterations in NG2+ pericyte population ex vivo and in vitro.
Schultz N, Brännström K, Byman E, Moussaud S, Nielsen HM; Netherlands Brain Bank, **Olofsson A**
Wennström M. *Aging Cell.* **2018 Jun;17(3):e12728.** doi: 10.1111/accel.12728. Epub 2018 Feb 17.

Meritförteckning

Anders Olofsson
Marmorvägen 109
907 42 Umeå
anders.olofsson@umu.se

Utbildning

1997-2003	Doktorand vid institutionen för cell och molekylärbiologi under ledning av prof. Erik Lundgren. Avhandlingens titel "Amyloid from transthyretin – elucidation of molecular structures and mechanisms"
2003-2009	Postdoc inom Elisabeth Sauer Erikssons grupp. Umeå Universitet.
2009-2014	Forskarassistent tjänst vid inst. för Medicinsk Biokemi och Biofysik, Umeå Universitet.
2015-idag	Tillsvidareanställd som vid inst. för Medicinsk Biokemi och Biofysik, Umeå Universitet där jag driver en egen grupp samt undervisar. 20% lektor.

Forskningsmeriter

Gruppledare sen 2009 vid inst. för medicinsk biokemi och biofysik.

Utbildade doktorander (huvudhandledare):

2012	Malin Lindhagen-Persson (2007-2012) – Avhandlingens titel "Identifying Malin är idag forskningschef för Nordic Biomarker
2012-2016	Irina Iakovleva. Irina försvarade september 2016 sin avhandling
2016-idag	Tohidul Islam pågående forskarutbildning.

Publikationslista

Manuscript

- 1. Apolipoprotein E impairs amyloid- β fibril elongation**
Tohidul Islam¹, Anna Gharibyan¹, Solmaz A. Golchin¹, Nina Pettersson¹, Kristoffer Brännström¹, Isabell Hedberg¹, Merit-Miriam Virta¹, Linnea Olofsson¹ and Anders Olofsson¹ *
Skall inom kort skickas till PNAS
- 2. Pyridine fused 2-pyridones via Povarov and A³ reactions: rapid generation of highly functionalized tricyclic heterocycles capable of amyloid fibril binding**
Authors: Singh, Pardeep; Adolfsson, Dan; Ådén, Jörgen; Cairns, Andrew; Bartens, Christian; Brännström, Kristoffer; Olofsson, Anders; Almqvist, Fredrik
Manuscript Status: Submitted to The Journal of Organic Chemistry ID: jo-2018-030156.R1
- 3. The amyloid-inhibiting effect of transthyretin on A β and IAPP expose a balance between a beneficial chaperone and a protein with pathological properties.**
Solmaz A. Golchin², Nina Pettersson², Johanna Lundgren, Gabriella Johansson, Anna Gharibyan, Tohidul Islam and Anders Olofsson^{2,*}
Avses att inom kort skickas till Journal of Molecular Biology

*Alla manuskript och deras status kan ses genom att följa nedanstående länk

<https://www.dropbox.com/sh/0129nxzowcepg28/AAAviTSwg5IZjqO-hZlzJjKia?dl=0>

Publicerade uppsatser - vetenskapliga original artiklar publicerade i internationella "peer-review"-tidskrifter 2013-2018

- 55. Interspecies Variation between Fish and Human Transthyretins in 2 Their Binding of Thyroid-Disrupting Chemicals.** Jin Zhang, Christin Grundström, Kristoffer Brännström, Irina Iakovleva, Mikael Lindberg, Anders Olofsson, Patrik L. Andersson and A. Elisabeth Sauer-Eriksson
Environ Sci Technol. 2018 Oct 2. doi: 10.1021/acs.est.8b03581.
- 54. Transthyretin Interferes with A β Amyloid Formation by Redirecting Oligomeric Nuclei into Non-Amyloid Aggregates.** Nilsson L, Pamrén A, Islam T, Brännström K, Golchin SA, Pettersson N, Iakovleva I, Sandblad L, Gharibyan AL, Olofsson A.
J Mol Biol. 2018 Jun 8. pii: S0022-2836(18)30581-3. doi: 10.1016/j.jmb.2018.06.005.
- 53. The Properties of Amyloid- β Fibrils Are Determined by their Path of Formation.** Brännström K, Islam T, Gharibyan AL, Iakovleva I, Nilsson L, Lee CC, Sandblad L, Pamrén A, Olofsson A.
J Mol Biol. 2018 Jun 22;430(13):1940-1949. doi: 10.1016/j.jmb.2018.05.001.
- 52. Scanning Electron Microscopy as a tool for evaluating morphology of amyloid structures formed on Surface Plasmon Resonance chips.** Kristoffer Brännströma, Anna L. Gharibyan, Tohidul Islama, Irina Iakovleva, Lina Nilsson, Cheng Choo Lee, Linda Sandblad, Annelie Pamren and Anders Olofsson.
Data in Brief, August 2018, Pages 1166-1170. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.05.129>
- 51. Amyloid-beta 1-40 is associated with alterations in NG2+ pericyte population ex vivo and in vitro.**

Schultz N, Brännström K, Byman E, Moussaud S, Nielsen HM; Netherlands Brain Bank, **Olofsson A**
Wennström M. *Aging Cell*. 2018 Jun;17(3):e12728. doi: 10.1111/accel.12728. Epub 2018 Feb 17.

50. The Role of Histidines in Amyloid β Fibril Assembly.
Kristoffer Brännström, Tohidul Islam, Linda Sandblad and **Anders Olofsson**.
FEBS Letters, 2017 Mar 7. doi: 10.1002/1873-3468.12616.

49. Adaptation of the Oncopathogen *Helicobacter pylori* During Chronic Infection and to Gastric Disease by Acid-Responsive Adherence. Jeanna Anatolii Bugaytsova, I Yevgen Alexandrovich Chernov, Pär Gideonsson, Oscar Björnham, Sara Henriksson, Melissa Mendez, I Rolf Sjöström, I Jafar Mahdavi, Anna Shevtsova, Dag Ilver, Kristof Moonens, Macarena Paz Quintana-Hayashi, Roman Moskalenko, Christopher Aisenbrey, Göran Bylund, Alexej Schmidt, Anna Åberg, I Kristoffer Brännström, Verena Königer, Susanne Vikström, Lena Rakhimova, Anders Hofer, Johan Ögren, Hui Liu, Matthew Goldman, Jeannette Marie Whitmire, Jörgen Ådén, Justine Younson, Charles George Kelly, Robert Hugh Gilman, Abhijit Chowdhury, Asish Kumar Mukhopadhyay, Gopinath Balakrish Nair, Konstantinos Sotiris Papadakis, Beatriz Martinez-Gonzalez, Dionyssios Nickolas Sgouras, Lars Engstrand, Magnus Unemo, Dan Danielsson, Sebastian Suerbaum, Stefan Oscarson, Ludmilla Alexandrovna Morozova-Roche, **Anders Olofsson**, Gerhard Gröbner, Jan Holgersson, Anders Esberg Nicklas Strömberg, Maréne Landström, Angela Margaret Eldridge, Brett Alexander Chromy, Lori Martin Hansen, Jay Varlow Solnick, Sara Katarina Lindén, Rainer Haas, Andre Dubois, Douglas Scott Merrell, Staffan Schedin, Han Remaut, Anna Arnqvist, Douglas Eugene Berg, Thomas Borén.
Cell Host Microbe. 2017 Mar 8;21(3):376-389. doi: 10.1016/j.chom.2017.02.013.

48. Structure-Based Virtual Screening Protocol for in Silico Identification of Potential Thyroid Disrupting Chemicals Targeting Transthyretin. Zhang J, Begum A, Brännström K, Grundström C, Iakovleva I, **Olofsson A**, Sauer-Eriksson AE, Andersson PL. *Environ Sci Technol*. 2016 Nov 1;50(21):11984-11993. PubMed PMID: 27668830.

47. Tetrabromobisphenol A is an efficient stabilizer of the transthyretin tetramer Irina Iakovleva¹, Afshan Begum², Kristoffer Brännström¹, Alexandra Wijsekera¹, Jin Zhang² Patrik L. Andersson², A. Elisabeth Sauer-Eriksson², and **Anders Olofsson** *PLoS One*. 2016 Apr 19;11(4):e0153529. doi: 10.1371/journal.pone.0153529.

46. Modification of the 7-hydroxyl Group of the Transthyretin Ligand Luteolin Provides Mechanistic Insights into its Binding Properties and High Plasma Specificity. Lina Nilsson^{1,2}, Andreas Larsson^{2,3}, Afshan Begum², Irina Iakovleva¹, Marcus Carlsson², Kristoffer Brännström¹, A. Elisabeth Sauer-Eriksson², and **Anders Olofsson** *PLoS One*. 2016 Apr 6;11(4):e0153112. doi: 10.1371/journal.pone.0153112.

45. Iakovleva I, Brännström K, Nilsson L, Gharibyan AL, Begum A, Anan I, Walfridsson M, Sauer-Eriksson E and **Olofsson A**. Enthalpic Forces Correlate with Selectivity of Transthyretin-Stabilizing Ligands in Human Plasma.
J Med Chem. 2015 Jul 27

44. Iakovleva I, Begum A, Pokrzywa M, Walfridsson M, Sauer-Eriksson AE and **Olofsson A**. The flavonoid luteolin, but not luteolin-7-O-glucoside, prevents a transthyretin mediated toxic response.
PLoS One. 2015 May 28

43. The N-terminal Region of Amyloid β Controls the Aggregation Rate and Fibril Stability at Low pH Through a Gain of Function Mechanism. Kristoffer Brännström, Anders Öhman, Lina Nilsson, Mathias Pihl, Linda Sandblad and **Anders Olofsson**. *J Am Chem Soc*. 2014 Aug 6.

42. Brännström K, Lindhagen-Persson M, Gharibyan AL, Iakovleva I, Vestling M, vSellin ME, Brännström T, Morozova-Roche L, Forsgren L, **Olofsson A**. A generic method for design of oligomer-specific antibodies. *PLoS One*. 2014 Mar 11;9(3):e90857

41. Wang C, Klechikov AG, Gharibyan AL, Wärmländer SK, Jarvet J, Zhao L, Jia X, Shankar SK, **Olofsson A**, Brännström T, Mu Y, Gräslund A, Morozova-Roche LA. The role of pro-inflammatory S100A9 in Alzheimer's disease amyloid-neuroinflammatory cascade. **Acta Neuropathol.** 2013 Nov 16.

40. Transthyretin is dysregulated in preeclampsia and its native form prevents the onset of disease in mice. Satyan S Kalkunte, Stefan Neubeck, Wendy E Norris, Stefan Kostadinov, Dang Vu Hoang, Aftab Ahmed, Ferdinand von Eggeling, Zahir Shaikh, James Padbury, Göran Berg, **Anders Olofsson**, Udo R Markert and Surendra Sharma. **Am J of Pathol.** 2013 Sep 10.

39. Horvath I, Sellstedt M, Weise C, Nordvall LM, Krishna Prasad G, **Olofsson A**, Larsson G, Almqvist F, Wittung-Stafshede P. Modulation of α -synuclein fibrillization by ring-fused 2-pyridones: Templatation and inhibition involve oligomers with different structure. **Arch Biochem Biophys.** 2013 Apr 15, 532(2):84-90.

38. Ådén, Jörgen; Weise, Christoph; Brännström, Kristoffer; **Olofsson, Anders**; Wolf-Watz, Magnus. Structural topology and activation of an initial adenylate kinase-substrate complex. **Biochemistry** 2013 Feb 12;52(6):1055-61.

