



翻译后修饰调控神经退行性疾病相关蛋白质聚集体的构象多态性研究

王若楠[†], 简中意[†], 于兰兰^{*}, 王晨轩^{*}

中国医学科学院基础医学研究所, 北京协和医学院基础学院, 生物物理及结构生物学系, 重大疾病共性机制研究全国重点实验室, 北京 100005

[†]同等贡献

^{*}通讯作者, E-mail: yull@ibms.pumc.edu.cn; wangcx@ibms.pumc.edu.cn

收稿日期: 2024-09-02; 接受日期: 2024-10-30; 网络版发表日期: 2024-12-04

国家自然科学基金(编号: 92353302)资助项目

摘要 淀粉样蛋白质聚集体的构象多态性在神经退行性疾病的发病机制及靶向药物研发中具有重要意义。构象多态性是淀粉样蛋白聚集体的基本结构特征且受多种因素调控。翻译后修饰作为关键的调控因子, 通过调节淀粉样蛋白的聚集动力学与聚集体结构, 赋予聚集体丰富的构象多态性。本文回顾了近年来为解析淀粉样蛋白聚集体构象多态性发展的高分辨率结构解析新方法, 介绍了淀粉样蛋白聚集体构象多态性的结构特征与调控机制研究取得的新进展。本文总结了淀粉样蛋白翻译后修饰的异质化效应及其在神经退行性疾病病理机制中发挥的关键作用, 阐明翻译后修饰对淀粉样聚集体构象多态性重要的调控机制, 并分析了现阶段该研究领域的局限性与挑战。

关键词 淀粉样蛋白, 聚集, 异质化效应, 构象多态性, 结构解析

1 引言

淀粉样蛋白(amyloid)是一类不可溶的纤维性蛋白质, 其在器官中的非正常堆积造成类淀粉沉积症(amyloidosis)。类淀粉沉积症包含了多种神经退行性疾病, 如阿尔兹海默病(Alzheimer's disease, AD)、帕金森病(Parkinson's disease, PD)、肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)等^[1-3]。淀粉样蛋白的病理性聚集与这类疾病的发生发展密切相关, 也是相关疾病重要的临床病理标志物。例如, 神经元外 β -淀粉样蛋白(amyloid β , A β)形成的纤维状聚集体斑块和神经

元内tau蛋白形成的神经纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs)是AD的主要生物学标志, 反映其病理特征^[2]。 α -突触核蛋白(α -synuclein)在路易氏体或路易氏突起的异常聚集, 造成多巴胺能神经元死亡是PD的病理学特征^[3]。这类疾病具有相似的病理机制, 即从可溶性单体到毒性寡聚体, 再到不溶性的淀粉样蛋白聚集体的逐级组装^[3,4]。在组装过程中, 具有正确折叠构象的蛋白质单体发生错误折叠, 形成 β -发卡结构, 组装成具有生理毒性的寡聚体。寡聚体进一步融合形成具有 β -片层结构的原纤维。原纤维通过堆叠、扭曲和缠绕, 形成成熟的淀粉样蛋白聚集体(图1)^[4]。淀粉样蛋白聚

引用格式: Wang R, Jian Z, Yu L, Wang C. Post-translational modifications regulate conformational polymorphism of protein aggregates associated with neurodegenerative diseases. *Sci Sin Chim*, 2025, 55: 785–807, doi: [10.1360/SSC-2024-0194](https://doi.org/10.1360/SSC-2024-0194)

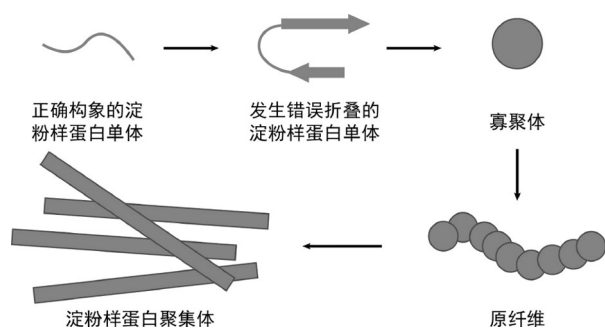


图 1 淀粉样蛋白聚集过程示意图。天然构象的淀粉样蛋白单体发生错误折叠, 形成寡聚体、原纤维, 进一步聚集形成不溶性的淀粉样蛋白聚集体

Figure 1 Schematic illustration of the amyloid aggregation process. Amyloid protein monomers in their native conformation misfold to form oligomers and protofibrils, which further aggregate to form insoluble amyloid protein aggregates.

集体在神经元及神经胶质细胞中的积累, 触发炎症反应、扰乱钙平衡、破坏神经元代谢, 最终导致神经元功能障碍与细胞凋亡^[5]。

淀粉样蛋白聚集体在神经退行性疾病的发病机制中发挥核心作用, 已成为药物研发的重要靶标。以AD相关的A β 蛋白为例, 2022年清除有毒性A β 蛋白聚集体的仑卡奈单抗(lecaneumab)通过III期临床试验, 2023年7月6日已经被美国食品药品监督管理局(U.S. Food and Drug Administration, FDA)完全批准^[6]。仑卡奈单抗是20年来首款FDA完全批准的治疗AD的新药, 用于治疗由AD引起的轻度认知障碍和AD轻度痴呆^[7]。该药于2024年1月在中国获批。2023年礼来公司公布了多奈单抗(Donanemab)完整的III期临床试验, 结果显示多奈单抗对处于疾病早期的患者治疗效果更优, 显著减缓患者认知功能的下降^[8]。2024年7月2日, 多奈单抗获得FDA批准^[9]。上述进展表明淀粉样蛋白聚集体是攻克AD等退行性疾病治疗难题的关键靶标。此外, 研究表明在临床症状出现的10~20年前A β 蛋白已开始沉积, 而仑卡奈等单抗药物主要针对早期AD, 突显在早期AD阶段清除A β 沉积对AD治疗的重要性^[10]。

靶向淀粉样蛋白聚集体的药物研发仍然面临挑战。近20年来全球范围内针对A β 靶标的药物研发投入已超6000亿美元, 但多数新药在临床试验中遭遇挫折。自2017年至2022年, 以淀粉样蛋白为靶标研发的AD新药苏兰珠单抗、甘特单抗等均未能通过临床试验^[11,12]。阿杜卡努单抗(aducanumab)于2021年在美国获FDA有条件批准上市, 却于2024年停止所有试验,

退出市场^[13,14]。淀粉样蛋白聚集体的构象多态性是靶向药物研发失败的可能原因之一。淀粉样蛋白聚集体展现出丰富的构象异质性, 即同一种蛋白质可形成多种不同构象的聚集体^[15~18]。构象异质性的聚集体在病理毒性上存在显著差异性^[15]。因此, 阐明不同构象的淀粉样聚集的病理毒性机制, 解析淀粉样蛋白聚集体的构象多态性及其调控规律, 发现特异性识别具有特定构象的聚集体的靶向药物, 将为发展淀粉样蛋白的靶向药物提供科学依据。解析淀粉样蛋白聚集体的构象多态性已成为该领域的前沿研究方向, 对于推动神经退行性疾病治疗药物的研发具有重要意义。

综上所述, 淀粉样蛋白聚集体作为神经退行性疾病的关键病理标志物和治疗靶点, 其异常聚集机制及构象多态性的深入研究对于疾病的理解和治疗具有重要意义。深入探索淀粉样蛋白聚集体的构象变化规律及其与疾病发生发展的关系, 为神经退行性疾病的治疗开辟新的途径。

2 神经退行性疾病相关蛋白质聚集体的构象多态性

2.1 构象多态性是淀粉样蛋白聚集体结构的基本特征

构象多态性是致病蛋白聚集体的重要结构特征。淀粉样蛋白(如A β 、tau、TDP-43、 α -synuclein等)在病理条件下发生错误折叠形成纤维状的淀粉样蛋白聚集体。聚集体的长度分布从数百纳米至数微米, 宽度分布从几纳米至十几纳米(图2a)^[19~22]。聚集体在形貌上的相似特征为理解不同致病蛋白聚集体在神经退行性疾病中普遍出现的神经元损伤和功能衰退提供了结构依据^[15,19,23~26]。伴随冷冻电镜(cryo-electron microscopy, cryo-EM)和固体核磁共振波谱(solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy, ssNMR)等技术的进步, 高分辨率结构学研究发现形貌高度相似的致病的淀粉样蛋白聚集体在纳米到亚纳米尺度上展现出构象多态性, 即同一种蛋白质折叠为不同的构象进而聚集形成纤维^[27]。即使是同一种蛋白质, 在不同的疾病背景下或甚至在同一疾病的不同患者之间, 也可能以不同的构象发生聚集。例如, 从AD、慢性创伤性脑病(chronic traumatic encephalopathy, CTE)、皮克病(Pick's disease, PiD)、皮质基底节变性(corticobasal degeneration,

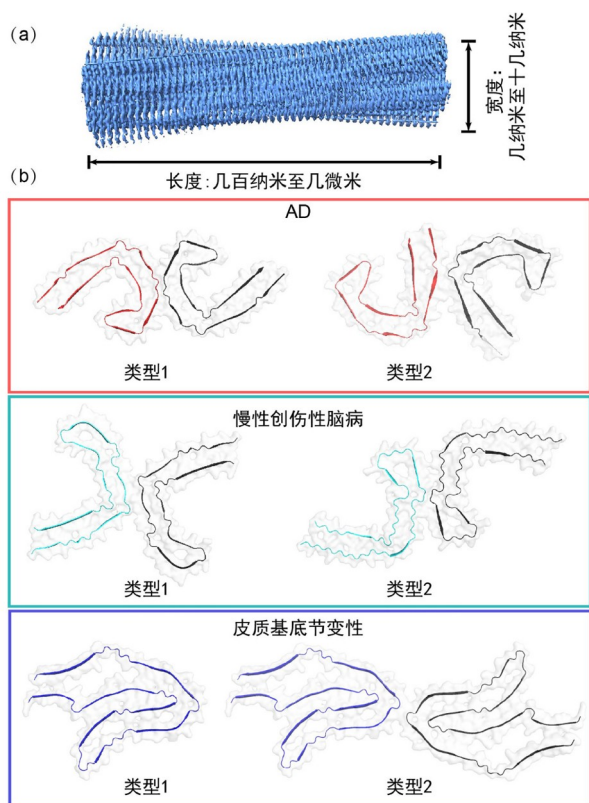


图 2 (网络版彩图)在不同疾病中tau原纤维的不同折叠结构^[22,26]. (a) 纤维状聚集体示意图^[22]. (b) 从AD、慢性创伤性脑病、皮质基底节变性等多种不同疾病患者的大脑中分离出的tau原纤维展示出不同的折叠结构^[26]. AD的PDB编码为5O3L和5O3T. 慢性创伤性脑病的PDB编码为6NWP和6NWQ. 皮质基底节变性的PDB编码为6VHA和6VH7

Figure 2 (Color online) Different folding structures of tau fibrils in different diseases ^[22,26]. (a) Schematic illustration of a fibrillar aggregate ^[22]. (b) Tau protofibrils isolated from the brains of patients with various diseases such as AD, chronic traumatic encephalopathy, and corticobasal degeneration show different folding structures ^[26]. The PDB codes for AD are 5O3L and 5O3T. The PDB codes for CTE are 6NWP and 6NWQ. The PDB codes for CBD are 6VHA and 6VH7.

CBD)等多种不同疾病患者的大脑中分离出的tau原纤维展示出不同的折叠结构(图2b)^[26]. 在同一种疾病中,如慢性创伤性脑病,tau原纤维也存在多种构象^[26]. 因此解析聚集纤维的构象多态性是理解淀粉样纤维导致不同病理表型的关键物质结构基础.

淀粉样蛋白聚集体的构象多态性对神经退行性疾病相关蛋白质聚集体的生理和病理作用发挥重要的调控功能. 为解析内源性A β 40原纤维结构, Tycko等^[16,17]以捐献者脑内灰质区提取的A β 纤维为种子, 在体外诱导A β 40单体生长纤维样聚集体. ssNMR结构解析表明

该A β 40原纤维中的原丝横截面呈现“U”形(图3a)^[16,17]. 3根原丝围绕原纤维生长轴向互相缠绕. 三对分子内相互作用F19-I32、F19-V36、H13-V40与一对分子间相互作用I31-V39对于稳定A β 40原纤维结构发挥了关键作用(图3a)^[16,17]. 2021年, Ghosh等^[28]以捐献者脑内皮质组织提取物为种子, 在体外诱导单体发生聚集, 获得满足实验需要量的A β 40原纤维. ssNMR研究发现 β 片层中的每个A β 40分子保持了近乎完全延伸状态. 靠近N-末端的H13-E22片段与C-末端的I30-V40片段分别形成 β 折叠结构, 并被无规卷曲结构的D23-G29片段相连(图3b)^[28]. 2017年, Schröder等^[29]使用cryo-EM技术以4.0 Å的分辨率测定体外生长的A β 42原纤维结构. 该结构中A β 42原丝呈现“LS”形拓扑结构, 其中N-末端为“L”形, C-末端为“S”形(图3c)^[29]. 三个疏水团簇A2/V36/F4/L34、L17/I31/F19和A30/I32/M35/V40沿纤维轴向排布, 稳定纤维结构(图3c)^[29]. 2017年, 从18名不同临床亚型AD患者(包含快速进展型AD、后皮质萎缩型AD、典型的延长型AD)收集了37例大脑皮质组织样本, 并提取脑内A β 纤维^[30]. ssNMR技术解析以脑内A β 纤维为种子生长的A β 42纤维结构^[30]. 对比不同样本之间的二维ssNMR谱图, 发现捐献者脑部A β 42纤维普遍展现出构象异质性, 每种样本中至少含有两种折叠结构^[30]. 2022年, Ghetti等^[18]解析人脑来源A β 42纤维的cryo-EM结构, 揭示了“S”形原丝形成了I型和II型两种原纤维结构. I型原纤维主要存在于散发性AD患者的大脑中, 由两根相同的“S”形(类似于字母S或其反面的双曲线)原丝组成. 每个原丝的核心结构域从G9延伸到A42, 包含5个 β 折叠结构域(图3d)^[18]. II型原纤维存在于患有家族性AD、PD、路易体痴呆等疾病的个体中, 核心结构域从V12延伸到A42, 包含了4个 β 折叠结构域(图3e)^[18]. 研究表明大脑提取的A β 42原丝结构与体外生长的原丝结构不同^[18].

除A β 纤维外, 其他种类的淀粉样蛋白聚集体形成的纤维结构也展现出构象多态性. 2019年, Eisenberg团队^[31]使用cryo-EM技术揭示了体外表达的TDP-43的311-360片段聚集体存在三种原纤维结构, 均具有“匕首”形折叠结构. 其中F313-A341片段的疏水残基通过疏水作用紧密堆积, 在Q327处形成尖锐的160°扭转, 形成匕首尖端^[31]. 三种原纤维结构的主要区别在于原丝的数量和对称性^[31]. 第一种原纤维包含两个相同的原丝^[31]. 第二种原纤维包含两个构象略有不同的原

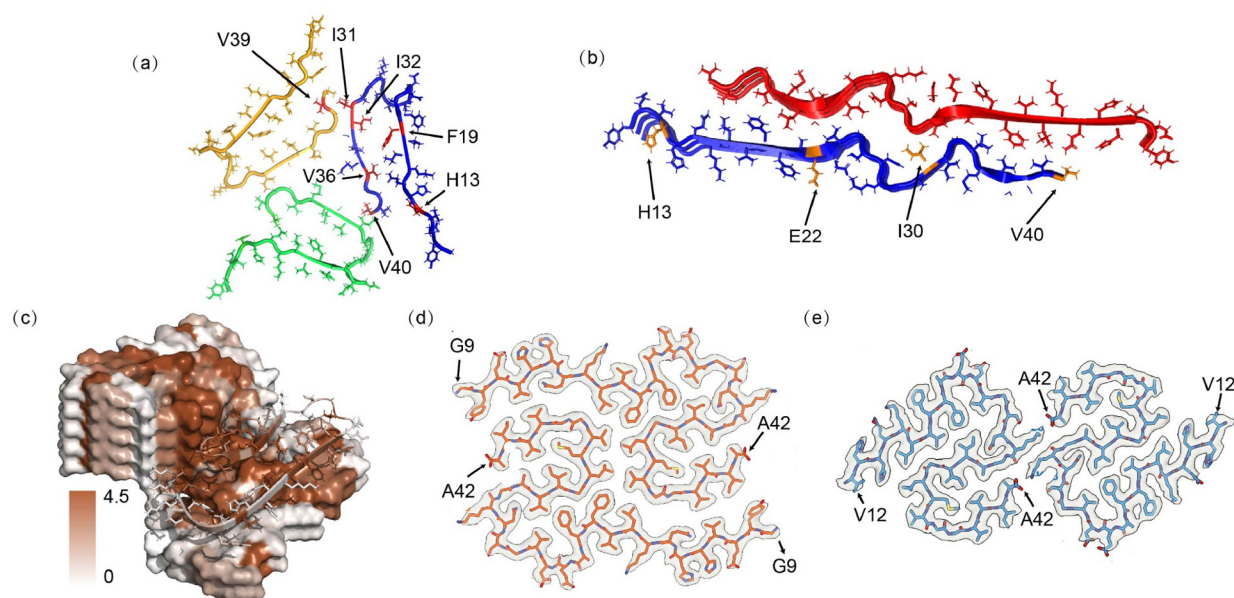


图 3 (网络版彩图) A β 聚集体的构象多态性^[17,18,28,29]. (a) 从AD患者脑内提取的A β 纤维为种子生长的A β 40原纤维的结构模型图^[17]. PDB编码: 2LMP. (b) 以人脑来源的A β 纤维为种子生长的A β 原纤维 β 片层中残基10~40的结构模型图^[28]. PDB编码: 6W0O. (c) 体外生长的A β 42原纤维的原子模型图(横截面的倾斜视图)并在表面根据疏水性着色, 从棕色(疏水性, 4.5)到白色(中性, 0.0)的渐变^[29]. PDB编码: 5OQV. (d) 人脑来源的A β 42原纤维I型原纤维的冷冻电镜密度图(透明灰色)和原子模型^[18]. PDB编码: 7Q4B. (e) 脑源性A β 42原纤维II型原纤维的冷冻电镜密度图(透明灰色)和原子模型^[18]. PDB编码: 7Q4M

Figure 3 (Color online) Conformational polymorphism of A β fibril aggregates ^[17,18,28,29]. (a) Structural model of seeded recombinant A β 40 protofilaments grown from seeds, which were derived from Alzheimer's disease brain tissue ^[17]. PDB code: 2LMP. (b) Structural model of residues 10 to 40 in the β sheet of brain-seeded A β protofibrils ^[28]. PDB code: 6W0O. (c) Atomic model of A β 42 protofibrils grown *in vitro* (tilted view of cross section) and colored on the surface according to hydrophobicity, with a gradient from brown (hydrophobic, 4.5) to white (neutral, 0.0) ^[29]. PDB code: 5OQV. (d) Cryo-EM density map (transparent gray) and atomic model of type I protofibrils of brain-derived A β 42 protofibrils ^[18]. PDB code: 7Q4B. (e) Cryo-EM density map (transparent grey) and atomic model of brain-derived A β 42 type II protofibrils ^[18]. PDB code: 7Q4M.

丝^[31]. 与第一种原纤维不同, 第二种原纤维的A341-S347片段弯曲约40°^[31]. 第三种原纤维包含四个原丝. 两个原丝在纤维中央, 包含50个有序残基^[31]. 纤维外侧是另外两个仅包含10个残基的原丝, 其中A341-S347片段弯曲约50°^[31]. TDP-43的A315E突变体286-331片段的原纤维结构中每根原丝均呈现“R”形拓扑结构^[31]. 与“匕首”形结构相比, “R”形拓扑结构的扭转程度更高^[31].

微管相关蛋白tau是由单个MAPT基因编码, 通过外显子10选择性剪接在人体内形成6种不同长度的异构体, 其微管结合区由3或4个重复序列(R1-R4)组成. 其中3种异构体含有3次重复的微管结合序列(3R), 另外3种异构体含有4次重复的微管结合序列(4R)^[32,33]. 依据构成纤维丝的tau异构体是3R或4R, tau蛋白病可分为三种亚型, 即3R、4R以及3R/4R混合型. AD、CTE、缠结性痴呆(tangle-only dementia)、原发性年龄相关tau蛋白病(primary age-related tauopathy,

PART)、家族性英国痴呆(familiar British dementia, FBD)、家族性丹麦痴呆(familiar Danish dementia, FDD)属于3R/4R混合型tau蛋白病; CBD、嗜银颗粒病(argyrophilic grain disease, AGD)、进行性核上性麻痹(progressive supranuclear palsy, PSP)、球形胶质tau蛋白病(globular glial tauopathy, GGT)、年龄相关tau星形胶质细胞病(aging-related tau astrogliopathy, ARTAG)属于4R型tau蛋白病; PiD属于3R型tau蛋白病^[32,33]. 不同亚型的tau蛋白病中分离的tau纤维丝在结构上表现出显著差异. 具体而言, 来源于AD (3R/4R混合型)捐献者脑组织的tau纤维的cryo-EM解析揭示tau蛋白的V306-F378片段(涉及R3、R4及C-末端区域)折叠形成含有8条 β 链(β 1-8)的“C”形原丝核心区(图4). 其中 β 4-6(位于R4区域)以三角形方式排列构成 β 螺旋结构, β 1-2与 β 8反平行紧密堆积(即R3与C-末端区域之间)、 β 3与 β 7反平行紧密堆积(即R3与R4之间)形成两对交叉 β 结构^[32]. 2股原丝的核心区通过各自的P332-Q336片段间

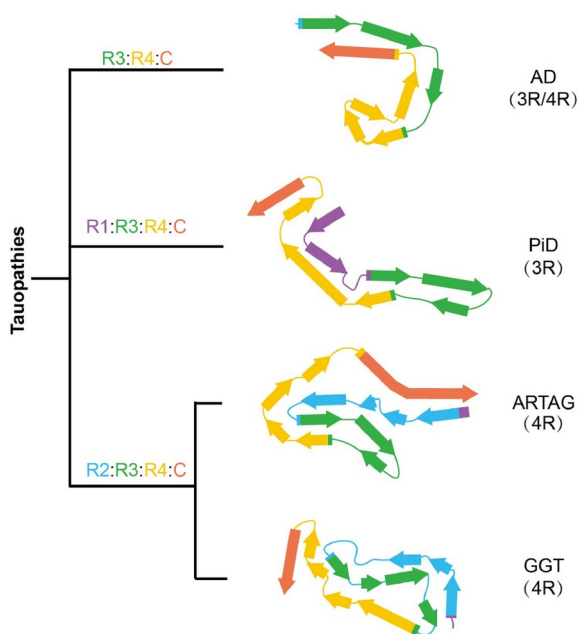


图 4 (网络版彩图)基于结构的tau蛋白病分类^[33]. AD中tau结构为3R/4R混合型, PiD中tau结构为3R型, ARTAG和GGT中tau结构为4R型. R1、R2、R3、R4和C-末端结构域中的残基分别标记为紫色、蓝色、绿色、黄色和橙色

Figure 4 (Color online) Structure-based classifications of tauopathies^[33]. The tau structure in AD is a mixed 3R/4R type, the tau structure in PiD is 3R type, and the tau structure in ARTAG and GGT is 4R type. The residues in the R1, R2, R3, R4, and C-terminal domains are marked in purple, blue, green, yellow, and orange, respectively.

的相互作用形成配对螺旋丝(paired helical filaments, PHFs), 或者通过第一股原丝的K321-S324片段与第二股原丝的V313-K317片段间的相互作用形成直丝(straight filaments, SFs)两类不同的超结构^[32]. 与3R/4R混合型tau蛋白病的丝状结构相比, 4R型tau蛋白病相关tau原丝的核心区域变大, 主要由R2、R3、R4、C-末端区域构成^[33]. 例如, ARTAG来源的tau原丝核心结构域包含了12条 β 链, 通过C-末端区域与R2、R2与R3、R3与R3/R4等多组反平行的 β 链间相互作用构成寿司型结构(图4). 而GGT来源的tau原丝核心结构域包含了12条 β 链, 通过R2与R3、R3与R4、R4与C-末端区域构成三明治型结构(图4)^[33]. 而3R型tau蛋白病相关tau原丝的核心区域是由R1、R3、R4和C-末端区域构成^[33]. PiD来源的tau原丝核心结构域包含了9条 β 链, 通过R1与R4、R3与R3、R4与C-末端区域间的多组 β 链间相互作用形成伸展型结构(图4)^[33,34]. 4R型与3R型tau原丝堆积形成的纤维丝超结构表现出多态性, 在原

丝堆积的方式与种类上与3R/4R混合型存在显著差异^[33,34].

上述研究进展表明致病淀粉样蛋白聚集体的构象多态性是理解致病蛋白不同病理表型差异的关键结构基础. 解析聚集纤维的构象多态性对于阐明聚集体的毒理机制, 优化神经退行性疾病分型与分级具有重要意义. 阐明致病淀粉样蛋白聚集体构象多态性的调控规律也是靶向药物研发和药效评估的关键科学基础, 为开发针对不同病理表型的精准治疗策略提供新的思路.

2.2 淀粉样蛋白聚集体构象多态性的高分辨率结构解析方法

淀粉样蛋白聚集过程中稳态与亚稳态间复杂的动态互变以及体系自身结构的高度异质性和非周期性极大地增加了解析聚集体纤维结构的技术难度, 迫切需要发展适用于解析高度异质性结构的高空间分辨率的新技术和新方法, 突破当前的研究瓶颈. 目前在亚纳米尺度实现对淀粉样蛋白聚集体精准的结构测定主要依赖ssNMR、cryo-EM和冷冻电子断层成像技术(cryo-tomography, cryo-ET)三种表征技术.

ssNMR技术解析蛋白质结构需要对蛋白质作多种同位素标记. ssNMR利用原子核在外加磁场中的自旋特性, 通过射频脉冲激发和检测自由感应衰减信号生成NMR谱图, 依赖魔角旋转(magic-angle spinning, MAS)等核心技术克服聚集体样品谱线展宽问题, 提高谱图分辨率^[35,36]. 从NMR谱图中提取蛋白质特定原子核间的空间距离和角度作为约束条件, 计算重构其精细三维结构, 揭示分子内部复杂构象和相互作用^[37]. 2012年, Lange等^[38]应用MAS ssNMR技术解析tau蛋白亚型截短体K19片段的原纤维结构. 该截短体包含三重重复序列的微管结合域(R1、R3、R4区域). 为便于指认NMR二维谱图, 减少信号重叠并增强特定原子的NMR信号, 除了对K19进行 ^{13}C - ^{15}N 标记外, 还对K19片段进行了如下特殊标记: 对序列中除Lys外的其余氨基酸进行 ^{13}C - ^{15}N 标记; 对序列中除Lys、Phe、Leu、Val外的其余氨基酸进行 ^{13}C - ^{15}N 标记; 对序列中的Cys、Tyr、Leu进行 ^{13}C - ^{15}N 标记; 单独标记 ^{13}C 的K19片段和单独标记 ^{15}N 的K19片段按1:1混合^[38]. 应用非灵敏核极化转移增强(insensitive nuclei enhanced by polarization transfer, INEPT)和全键相关谱(total through-bond cor-

relation spectroscopy, TOBSY)技术,发现R1区域中的A246、R3区域中的Y310和R4区域中的F346在皮秒到纳秒时间尺度表现出较高的动态特征^[38]. F346和A246展示出明确的无规卷曲结构的化学位移,而Y310在其无序状态下应出现的化学位移位置上并无NMR信号,表明R1和R4区域比R3区域更灵活(图5a)^[38]. 通过质子驱动自旋扩散(proton driven spin diffusion, PDS)实验,利用质子自旋的偶极相互作用,通过自旋扩散过程在同核自旋之间传递磁化,获得残基的 ^{13}C - ^{13}C 相互作用(图5b)^[38]. 在K19原纤维图谱中的平均 ^{13}C 线宽约为0.5~0.8 ppm,较窄的线宽反映了原纤维中较高级度的结构有序,发现R3中V306-S324的18个残基为刚性纤维核心,而大约80%的K19残基是高度动态的(图5b)^[38]. 通过比较次级化学位移(secondary chemical shifts, SCS),即比较不同残基在蛋白质分子中和其在无规卷曲状态下的化学位移推断蛋白质的二级结构信息,揭示了原纤维的刚性纤维核心是由两个短扭结(P312、S316)连接的三个 β 折叠结构域(V306-K311、V313-L315、K317-C322)组成(图5c)^[38]. 2016年, Rie-

stra等^[39]通过优化样品制备(不同位点的同位素标记组合)、数据收集(68个多维谱图)和计算分析(解析超过7500个交叉峰),测定了一种新型 α -synuclein原纤维结构,发现该结构的核心44~97片段平行排列,呈现希腊钥匙拓扑结构.

Cryo-EM技术的样品制备过程是利用快速液氮冷冻技术将生物样本固定于接近生理状态的玻璃态冰中,从而保持其自然构象. 基于cryo-EM的螺旋重构技术是在获得样本多个二维投影图像的基础上,借助螺旋对称性的独特特征,对图像进行精准对齐、细致分类及高效融合,最终生成高分辨率的三维结构图^[40,41]. 使用cryo-EM技术解析淀粉样蛋白聚集纤维结构分辨率可达2.0~4.0 Å^[18,27,42]. 2020年, Schröder等^[43]应用cryo-EM技术解析体外合成的人胰淀素(human islet amyloid polypeptide, hIAPP)的原纤维结构,发现三种原纤维结构(PM1、PM2和PM3),其中PM1占比大约90%, PM2占比大约10%, PM3占比大约1% (图6a~c). 在结构解析中,首先采集了1330张,每张1800帧的cryo-EM电子态密度图,使用MotionCor2和CTFFIND4

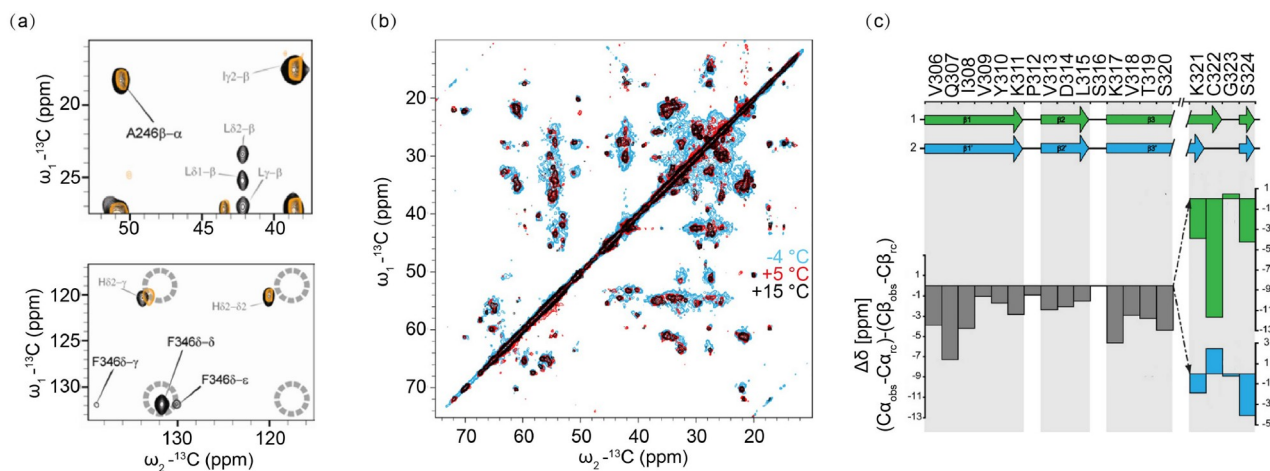


图 5 (网络版彩图) ssNMR解析K19原纤维结构^[38]. (a) 对序列中除Lys外的其余氨基酸进行标记(黑色)以及除Lys、Phe、Leu、Val外的其余氨基酸标记(橙色)样品的2D [^{13}C , ^{13}C]-INEPT-TOBSY图谱的叠加. 丙氨酸峰出现在脂肪族区域, 苯丙氨酸共振在图谱的芳香族区域中可见. 如果Y310足够灵活, 酪氨酸共振应该出现在虚线圆圈(灰色)的位置. (b) 在不同温度下(蓝色: -4°C ; 红色: 5°C ; 黑色: 15°C)的K19 C322A原纤维的PDSD图谱的叠加. (c) K19原纤维SCS分析, 连续负值表示 β 链构象, 负值中的不连续性表示 β 链之间的扭结. SCS分析表明三条 β 链由P312和S316两处扭结相连. 从K321到S324, 序列分为两组共振

Figure 5 (Color online) Structural elucidation of K19 paired helical filaments by using ssNMR ^[38]. (a) Superposition of 2D [^{13}C , ^{13}C]-INEPT-TOBSY spectra of samples labeled with the remaining amino acids in the sequence except Lys (black) and the remaining amino acids except Lys, Phe, Leu, and Val (orange). The alanine peak appears in the aliphatic region, and the phenylalanine resonance is visible in the aromatic region of the spectrum. If Y310 is flexible enough, the tyrosine resonance should appear at the position of the dashed circle (gray). (b) Superposition of PDSD spectra of K19 C322A filaments at different temperatures (blue: -4°C ; red: 5°C ; black: 15°C). (c) SCS analysis of K19 filaments indicates that continuous negative values represent β -strand conformations, while discontinuities in the negative values suggest twists between β -strands. The SCS analysis reveals the presence of three β -strands, which are interrupted by twists at P312 and S316. From K321 to S324, the sequence is divided into two sets of resonances.

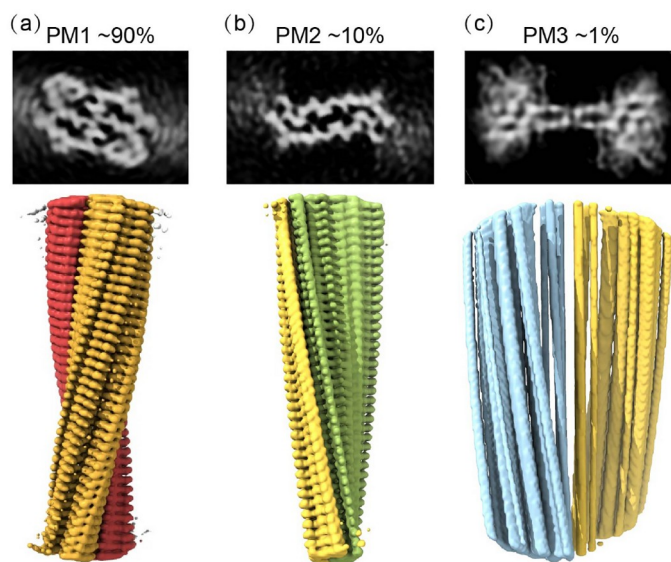


图 6 (网络版彩图) Cryo-EM解析hIAPP原纤维结构^[43]. hIAPP原纤维三种结构的3D重构切片图(上)和3D电子态密度图(下), PM1 (a), PM2 (b)和PM3 (c)

Figure 6 (Color online) Cryo-EM analysis of hIAPP protofibril structures^[43]. 3D reconstructed slice (top) and electron density map (bottom) of three hIAPP protofibril structures, including PM1 (a), PM2 (b), and PM3 (c).

对图像进行校正后手动选择并标记原纤维^[43]. 在螺旋重构中, 对于三种原纤维结构均使用充满噪声的圆柱体作为初始密度模型, 通过多轮迭代密度细化使模型更加刚性, 减少噪声并提高分辨率^[43]. 最后使用黄金标准评估和验证重建数据的准确性, 并使用傅里叶壳相关曲线获得最终分辨率, PM1和PM2的最终分辨率为4.2 Å, PM3的最终分辨率为8.1 Å^[43]. 对于PM1, 构建了螺旋参数为2.35 Å(螺旋上升)和178.23°(螺旋扭曲)的原子模型, 发现原纤维由两根相互缠绕的“S”形原丝组成, 该原丝展现出与Aβ原纤维中原丝类似的“S”形结构^[43]. 原子模型的侧视图显示了淀粉样蛋白原纤维结构的典型交叉β片层结构, 间距为4.7 Å^[43].

近年来, 应用cryo-EM技术在新发现的淀粉样蛋白聚集体精细结构解析方向取得了重要进展. TMEM106B是核内体和溶酶体的重要组分, 相关基因突变是额颞叶退行性变(frontotemporal lobar degeneration, FTLD)和边缘优势年龄相关TDP-43脑病等神经退行性疾病的危险因素^[44,45]. TMEM106B也广泛参与AD、PD、ALS等多种神经退行性疾病的病理机制^[44,45]. 2022年, 通过使用cryo-EM及质谱技术分别对来源于罹患PSP、路易体痴呆(dementia with Lewy bodies, DLB)以及FTLD伴有TDP-43病理(FTLD with

TDP-43 pathology, FTLD-TDP)捐献者脑组织样本作结构解析^[45]. 研究发现, TMEM106B的C-末端片段聚集形成的原纤维普遍存在于FTLD-TDP、DLB、PSP等三种不同表型的神经退行性疾病的病理组织中, 揭示了TMEM106B原纤维在不同种类神经退行性疾病的病理机制中发挥的共性作用^[45,46]. 类似地, PD捐献者脑组织和健康老年人脑组织中也发现了TMEM106B原纤维, 二者的构象多态性存在差异^[47,48]. 此外, cryo-EM技术在鉴定淀粉样聚集体的翻译后修饰研究中也展示了重要能力. 例如, α-synuclein原纤维的cryo-EM结构揭示了Y39的磷酸化修饰通过与K21、K32、K34、K43形成静电作用, 中和了α-synuclein原纤维中央的高正电荷密度空腔^[49]. 通过结合质谱分析, 实现了从tau原纤维的cryo-EM电子态密度图中对泛素化修饰位点的指认^[50]. 需要指出的是, 虽然tau蛋白会在S202、S262、S356、S396等多个位点上发生磷酸化修饰, 但是由于tau纤维结构的异质性以及磷酸化位点不处于纤维的核心区, 目前依赖cryo-EM技术解析tau纤维的磷酸化修饰仍然具有挑战性^[49].

Cryo-ET技术通过对样品多个角度拍照获得投影图, 重构为三维断层图像, 使用子断层平均法(sub-tomogram averaging, STA)进行高分辨率结构解析. 该技

术适用于解析细胞或组织环境中的细胞器和大分子及其复合物的三维结构. 应用cryo-ET技术在小鼠神经元原代细胞和永生化的细胞系中, 原位解析亨廷顿基因1号外显子中过度延长的多聚谷氨酰胺(polyglutamine, polyQ)形成的包涵体结构^[51], 发现polyQ包涵体由淀粉样纤维构成, 通过与细胞的内膜系统特别是内质网发生相互作用, 使内质网发生形变并扰乱其组成^[51]. 在大鼠神经元原位解析的重复肽(poly-glycine-alanine, poly-GA)聚集体结构揭示了poly-GA聚集体在细胞内形成的多态性丝带状结构, 并招募26S蛋白酶体^[52]. 神经元中 α -synuclein包涵体的原位结构表明包涵体由 α -synuclein纤维和具有膜结构的细胞器共同构成^[53]. TDP-43在诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)分化的神经元中的原位结构解析阐明TDP-43在溶酶体和自噬体中形成有序纤维^[54]. 对AD捐献者脑组织中A β 沉积与tau蛋白缠结开展的原位成像发现分布于不同纤维簇的纤维结构之间存在差异, 即组织原位的淀粉样异质性(amyloid heterogeneity)^[22].

虽然上述技术在解析聚集纤维构象多态性方面获得了重大进展, 但是由于这两种技术均涉及对周期信号作平均化处理, 仍然具有局限性. 具体而言, 存在下述技术瓶颈: (1) 有序性低与柔性的蛋白质聚集体结构解析难. cryo-EM技术可以高分辨率解析具有规则螺旋结构的纤维聚集体. 然而, 对于不具有螺旋结构或者是螺旋结构不规则的纤维聚集体开展高分辨结构解析仍然存在挑战性^[27]. (2) 高能态构象解析难. 高能态构象作为蛋白质功能发挥的关键中间状态, 其低分布概率使解析面临挑战^[27]. 这些短暂而重要的亚稳态构

象状态对于理解蛋白质的动态行为和功能调控至关重要, 但使用现有技术可解析出的共存构象数量仍然较少. (3) 小分子与聚集体纤维形成的复合物结构解析难. 与经典的球形蛋白的小分子结合口袋不同, 淀粉样蛋白聚集体的表面积大, 形貌平坦, 导致小分子与聚集体纤维之间的相互作用可能涉及多种不同的分子识别模式^[55]. 目前对小分子-聚集体复合物实现高分辨率结构解析极具挑战性. 2023年, Tao等^[55]基于cryo-EM的螺旋重构技术分别解析了叶绿素铜A(CCA)、伊文思蓝(EB)、硫黄素T(ThT)等9种小分子与 α -synuclein原纤维形成的复合物结构. 小分子与聚集体结合模式的复杂性体现在三个方面: 首先, 小分子的结合位点存在多样性, 在 α -synuclein形成的原纤维表面存在8个CCA的结合位点(图7a)、6个EB结合位点、6个ThT结合位点; 其次, 小分子的结合构象存在多态性^[55]. 例如, ThT分子通过分子内二面角旋转, 以2种构象与原纤维结合; 最后, 小分子通过分子间相互作用缔合为分子团簇, 以分子团簇作为基元结合于原纤维表面^[55]. 不同类型的小分子形成的团簇与原纤维之间的识别机制存在异质性. 在CCA、BF227a、PiB结合于 α -synuclein原纤维表面的分子团簇中, 小分子的长轴方向与聚集体中的肽链伸展方向成约45°夹角(图7b)^[55]. 而在ThT、EB结合于原纤维表面的分子团簇中, 小分子的长轴方向平行于聚集体中的肽链伸展方向(图7b)^[55].

实现对淀粉样蛋白聚集体多态性结构的系统性解析仍然是该研究领域的技术挑战, 需要发展新的技术手段在亚纳米尺度揭示聚集体的空间结构. 扫描隧道显微术(scanning tunneling microscopy, STM)利用电子

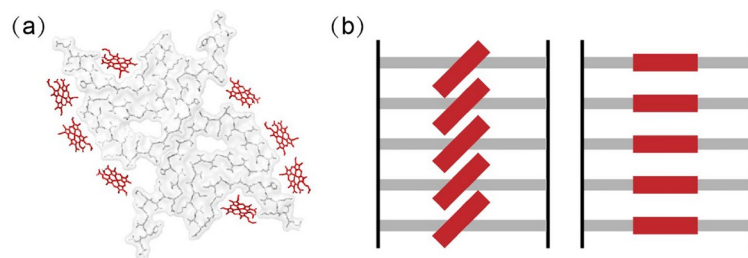


图7 (网络版彩图)小分子与淀粉样原纤维结合的复杂模式^[55]. (a) 小分子CCA与 α -synuclein原纤维结合的结构模型横截面. α -synuclein, 灰色. CCA, 红色. PDB编码: 7YNF. (b) 小分子与淀粉样原纤维结合的示意图. 图中展示了配体相对于原纤维轴的取向、配体间堆积模式和配体结合特异性. 红色长方形为小分子. 灰色长方形为氨基酸残基

Figure 7 (Color online) Complex patterns of small molecule binding to amyloid fibrils^[55]. (a) Cross-sectional view of the small molecule CCA binding to the α -synuclein fibril structure model. α -synuclein is shown in gray. CCA is red. PDB code: 7YNF. (b) Schematic illustration of the geometry of small molecules binding to amyloid fibrils. The figure shows the orientation of the ligand relative to the fibril axis, the inter-ligand stacking pattern, and the ligand binding specificity. The red rectangles are small molecules. The gray rectangles are amino acid residues.

从探针传输到样品表面或反向传输的隧穿效应, 通过测量隧穿电流与探针-样品电压的关系, 原位测定样品表面局部的电子态密度, 实现分子结构的实空间成像^[56,57]. 该技术不依赖于统计大量分子获得周期信号, 因而适用于解析高度异质性的分子结构. 2023年, Zhang等^[58]使用基于STM的单分子成像方法, 解析角蛋白14(KRT14)的120-144片段、-5A β 42、TDP-43的341-357片段聚集体的构象多态性, 在每一种聚集体中均观察到10余种构象亚稳态. 例如, KRT14的120-144片段聚集体中存在12种构象亚稳态(图8a)^[58]. 各构象对应的 β 链长度从2.6 nm延伸到6.2 nm. 12种构象亚稳态的最大自由能差为2.27 $k_B T$ (图8a)^[58]. 统计分析各构象亚稳态间发生相互作用的概率, 发现不同类型的相互作用模式的自由能差异在3.22 $k_B T$ 范围内波动^[58]. 2023年, Yu等^[59]使用STM技术解析hIAPP 8-37片段聚集体的构象多态性, 揭示该蛋白质 β 链形成18种共存构象, 进一步产生了82种构象间相互作用模式(图8b). STM技术也可用于解析小分子结合聚集体的相互作用多态性. 2020年, Yu等^[60]使用STM研究靶向淀粉样聚集体的分子探针ThT与hIAPP发生相互作用的复合物结构. STM研究揭示ThT分子的局域电子态密度图像是尺寸在1.5 nm $\times$ 0.9 nm至2.3 nm $\times$ 1.5 nm范围内变化的四边形结构, 大于单个ThT分子的预期分子尺寸(1.3 nm $\times$ 0.4 nm)^[60]. 结合理论计算, 发现ThT以四种寡聚化形式结合于聚集体表面: 二聚体(头/尾相对“2 $\times$ 1”方式)、二聚体(肩并肩“1 $\times$ 2”方式)、四聚体(“2 $\times$ 2”方式)、六聚体(“2 $\times$ 3”方式)^[60]. ThT的寡聚态具有奇偶数选择性, 仅发现二、四、六偶数寡聚状态(图8c)^[60]. 四种寡聚态在自由能上表现出非简并性, 其中“2 $\times$ 2”四聚体的布居分布概率最高, 能量最优^[60]. ThT分子的寡聚态由ThT分子之间的内聚功与ThT-聚集体间的黏附能共同决定^[60]. 依据概率分布与相对能量差理论可计算出两个头/尾相接的ThT分子间内聚功为6.4 $k_B T$, 强于两个肩并肩相连ThT的分子间内聚功(4.2 $k_B T$) (图8c)^[60]. 而ThT与聚集体之间的黏附能依赖于结合位点的微环境^[60].

综上所述, 虽然近年来在淀粉样蛋白聚集的多态性构象解析方面取得了显著进展, 但高度异质性的淀粉样蛋白聚集体的结构解析仍是挑战. 迫切需要发展新的结构表征方法用以解析淀粉样蛋白聚集的多态性构象.

2.3 淀粉样蛋白聚集体构象多态性的调控机制

受氨基酸序列、分子伴侣等多因素调控, 蛋白质折叠是一个协同有序的过程^[61]. 球状蛋白的天然构象处于折叠漏斗的能谷位置, 即蛋白质折叠中间体克服能垒, 数目不断减少并最终达到自由能最小^[62,63]. 与经典的球状蛋白体系不同, 淀粉样蛋白聚集体的主导构象为 β -折叠. 淀粉样蛋白单体的 β 链沿聚集体纤维延伸方向以约4.7~4.8 Å周期性堆叠, 构建出特征性的交叉- β 结构. 淀粉样蛋白聚集体的折叠漏斗存在多个体系能量的最小值, 赋予了淀粉样蛋白较高的构象自由度. 淀粉样蛋白往往选择性地折叠形成一种或几种能量较低的构象, 增加了聚集体构象多态性调控机制的复杂性^[62,63].

淀粉样蛋白聚集体多态性构象的调控机制复杂, 可归纳为三类: (1) 蛋白质的化学属性: 包括氨基酸序列的突变、截短、翻译后修饰等. 例如, 受S20G点突变调控的hIAPP纤维构象多态性. 2020年, Ranson等^[64]使用cryo-EM技术解析野生型hIAPP原纤维结构, 发现其由两根“S”形原丝构成(图9a). 而突变体S20G原纤维存在两种不同的构象(图9b)^[64]. 第一种S20G原纤维由两根原丝构成, 其残基15-18(β 1)、21-23(β 2)、28-31(β 3)和35-36(β 4)形成4个 β 折叠结构域, 其中 β 2折叠结构域在野生型结构中未曾观察到^[64]. 第二种S20G原纤维结构由三根原丝构成, 其中第三个S20G单体将其C-末端插入另外两个原丝单体形成的凹槽中, 改变了单体聚集的相对倾斜角和堆叠方式^[64]. 2023年, STM技术解析了S20G点突变对hIAPP核心序列8-37片段聚集体构象多态性的影响^[59]. 野生型hIAPP聚集体中 β 链的平均长度为4.3 $\pm$ 0.9 nm, 而S20G突变体的聚集体中 β 链的平均长度增加到5.2 $\pm$ 1.0 nm^[59]. 在hIAPP S20G聚集体中, 鉴定出19种构象亚稳态和95种亚稳态间的相互作用模式(图9c)^[59]. 与野生型相比, S20G突变体产生的构象亚稳态数增加1个, 相互作用种类增加13种(图9c)^[59]. 这些差异反映了点突变对聚集体构象多态性的影响. (2) 相互作用分子(核酸、蛋白质、脂质等)及蛋白质微环境(pH、离子强度等). 例如, 2021年, Ryskeldi-Falcon等^[65]使用cryo-EM技术解析患者额叶皮层中提取的TDP-43聚集体结构, 发现在TDP-43低复杂度结构域中的282-360片段采用双螺旋折叠. 该结构与体外生长的TDP-43原丝结构有显著差异^[65]. 类似地,

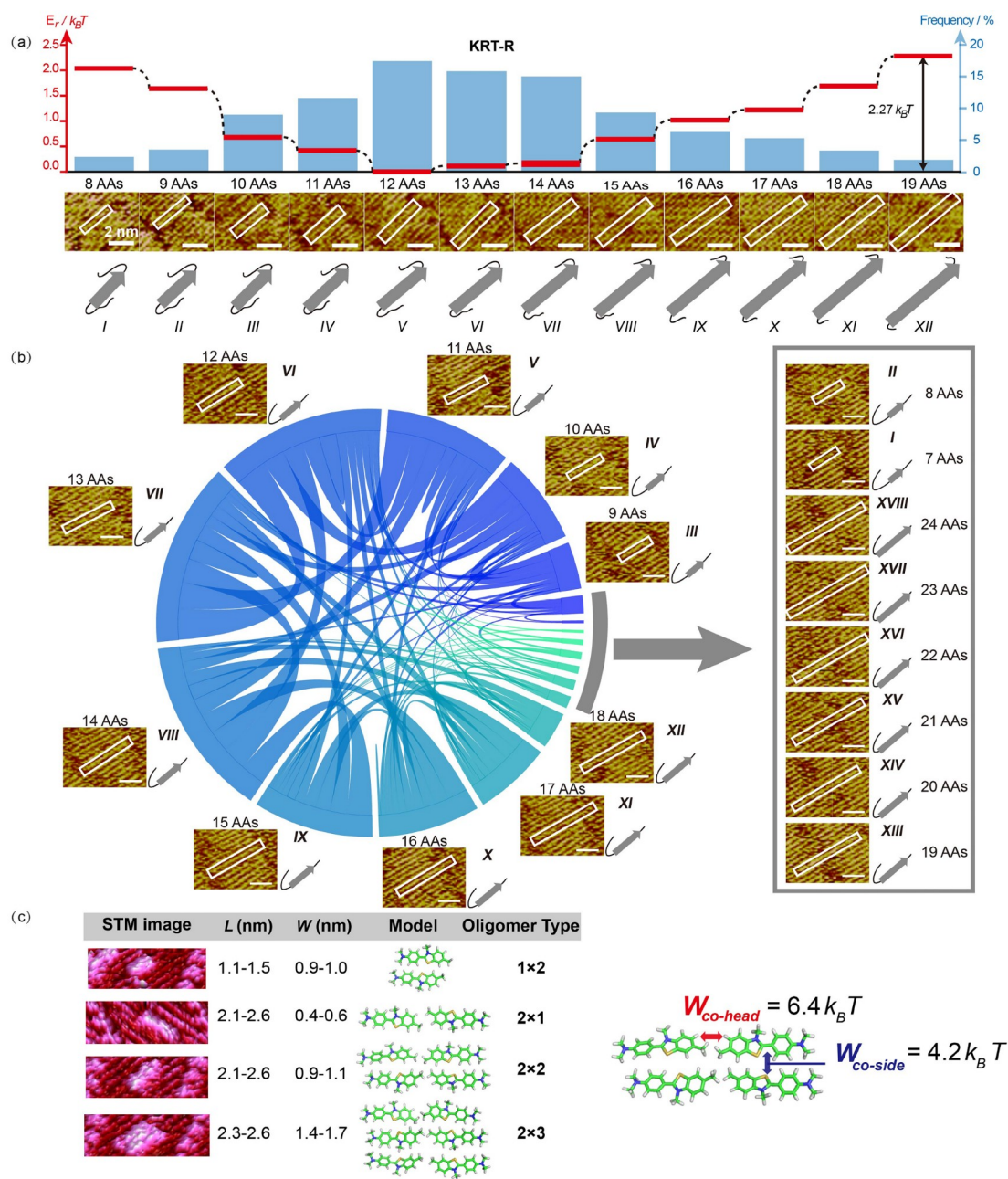


图 8 (网络版彩图) STM解析淀粉样聚集体的构象多态性以及小分子-聚集体复合物相互作用多态性^[58-60]. (a) KRT14的120-144片段聚集体中 β 链的相对自由能和构象亚稳态的占比^[58]. 比例尺: 2 nm. (b) hIAPP 8-37片段聚集体中构象亚稳态相互作用的和弦图^[59]. 沿圆周排列的不同节点代表一个构象亚稳态, 旁边为代表性的STM图像和每个构象亚稳态的 β 链中氨基酸残基的个数(AAs)^[59]. 和弦图中弧线为两个构象亚稳态存在相互作用, 弧线的宽度代表相互作用概率的大小. 比例尺: 2 nm. (c) 在hIAPP 8-37聚集体表面ThT形成的四种寡聚化状态对应的STM图像、尺寸及结构模型^[60].

Figure 8 (Color online) STM analysis of conformational polymorphism in amyloid aggregates and interaction polymorphism in small molecule-aggregate complexes^[58-60]. (a) Relative free energy of β -strands and population distribution of conformational metastable states in the aggregates formed by the KRT14 120-144 fragment^[58]. Scale bar, 2 nm. (b) Chord diagram of the interactions of conformational metastable states in the hIAPP 8-37 aggregates^[59]. The different nodes arranged along the circumference represent a conformational metastable state, next to which are representative STM images and the number of amino acid residues (AAs) in the β -strands of each conformational metastable state^[59]. The arcs in the chord diagram represent the interactions between two conformational metastable states, and the width of the arcs represents the probability of interactions. Scale bar: 2 nm. (c) STM images, size, and structural models corresponding to the four oligomerization states formed by ThT on the hIAPP 8-37 aggregate surfaces^[60].

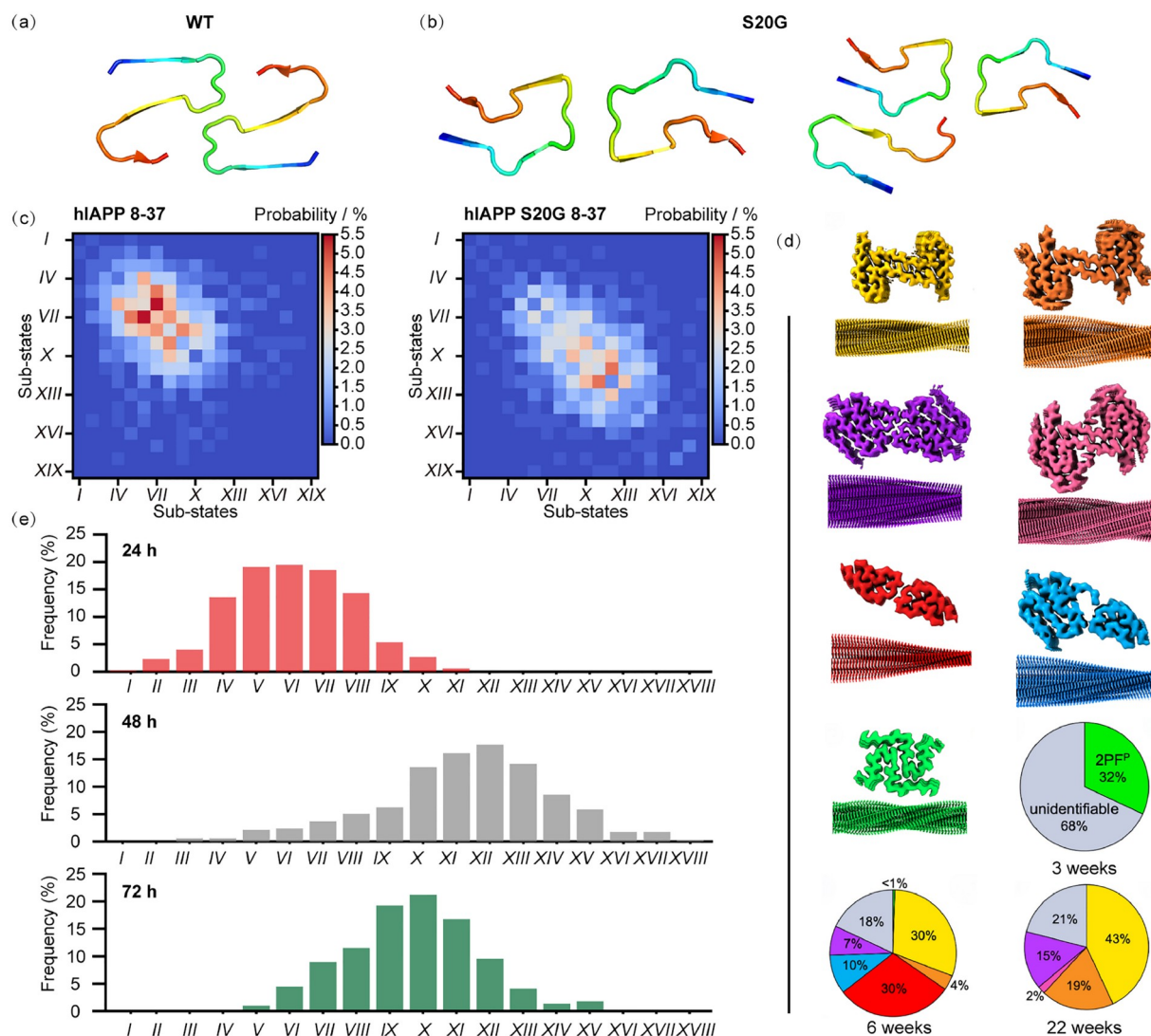


图 9 (网络版彩图) 序列改变和聚集动力学因素对hIAPP聚集体构象多态性的调控^[59,64,66,68]. (a) 野生型hIAPP聚集体的cryo-EM结构, PDB编码: 6ZRF^[64]. (b) hIAPP S20G聚集体的cryo-EM结构, PDB编码: 6ZRQ和6ZRR^[64]. (c) STM技术解析hIAPP 8-37 (左)和hIAPP S20G 8-37 (右)聚集体中构象亚稳态间相互作用的种类及分布概率^[59]. (d) hIAPP S20G纤维化过程中3个不同时间点存在的原纤维结构^[66]. 3个时间点共鉴定出7种原纤维结构, 以不同的颜色展示每种原纤维的3D密度图以及截面图. 饼状图为各时间点对应的cryo-EM结构及其占比. 灰色代表无法识别的原纤维结构. (e) STM解析hIAPP纤维化过程中24 h (红), 48 h (灰)以及72 h (绿)聚集体中构象亚稳态的种类及分布概率^[68].

Figure 9 (Color online) Modulate the conformational polymorphisms of hIAPP aggregates by sequence alterations and aggregation kinetics^[59,64,66,68]. (a) Cryo-EM structure of wild type hIAPP aggregates. PDB code: 6ZRF^[64]. (b) Cryo-EM structures of hIAPP S20G aggregates. PDB codes: 6ZRQ and 6ZRR^[64]. (c) The types of interactions between conformational metastable states in hIAPP 8-37 (left) and hIAPP S20G 8-37 (right) aggregates and the corresponding probabilities revealed by STM^[59]. (d) The fibril structures existing at three different time points during the fibrillation process of hIAPP S20G resolved by cryo-EM^[66]. A total of seven fibril structures are identified at three time points, and the 3D density map and slice map of each fibril are displayed in different colors. The pie chart shows the structure and proportion corresponding to each time point. Gray represents unrecognizable fibril structures. (e) The conformational metastable states and the corresponding probabilities in the hIAPP fibrillation process at 24 h (red), 48 h (gray) and 72 h (green) unveiled by STM^[68].

来自捐献者脑组织的内源性A β 原纤维结构与体外生长的A β 原纤维明显不同^[25]. 上述结果揭示了蛋白质所处的复杂生理环境对纤维构象的调控作用. (3) 蛋白质

的聚集动力学因素: 涉及纤维生长时间、单体蛋白浓度、成核诱导聚集的速率以及分子在溶液中的扩散能力等^[15,23-26]. 例如, 2023年, Ranson团队^[66]使用cryo-

EM技术解析hIAPP蛋白从成核、寡聚体, 到成熟纤维变化过程的构象变化. 发现伴随聚集过程的进展, 在滞后期(0~4周)、生长期(4~12周)和平台期(12~24周)形成的hIAPP原纤维具有7种不同的构象(图9d)^[66]. 在3周时存在一种单一的可溶性原纤维形式, 约占所有原纤维的1/3; 在6周时观察到其他的5种原纤维结构, 且3周时观察到的原纤维构象占比小于1%; 在22周时又解析出1种新的原纤维结构, 而6周时观察到的5种原纤维构象仅余3种(图9d)^[66]. 2023年, Scheres团队^[67]系统地解析了tau蛋白截短体在聚集过程中形成的各类型中间态构象在结构、分布概率、组装对称性等方面随时间变化的复杂演化规律. 该项研究揭示tau蛋白截短体在聚集过程的各个时间点均表现为多种异质性构象共存. 聚集起始阶段与终末阶段的tau蛋白构象存在显著差异, 起始阶段中间态构象的消失伴随新构象的生成. 当tau蛋白截短体形成了成熟纤维之后, 存在一种分布概率较多的优势构象, 且该优势构象的结构受溶液环境调控^[67]. 2024年, Jian等^[68]使用STM技术揭示了hIAPP形成的 β 链的多态性构象, 发现生长聚集24 h的hIAPP纤维状聚集体内部的单体构象存在异质性, 包含了11种不同构象的亚稳态(图9e). 随着蛋白质聚集时间的延长, 聚集48和72 h的hIAPP聚集体结构中分别包含了16种、12种不同的构象亚稳态(图9e), 构象亚稳态间主要相互作用模式也发生改变^[68]. 2023年, Liu等^[69]从临床前PD (pre-PD)、中晚期PD (mid-PD)和晚期PD (late-PD)等处于不同PD进展阶段患者的脑脊液中扩增了 α -synuclein聚集体. Cryo-EM结构解析发现不同PD阶段的 α -synuclein原纤维的主要构象相同, 但次要构象(占比小于30%)存在差异^[69]. 需要指出的是现阶段对致病蛋白聚集体构象多态性随聚集时间的变化规律的研究极其有限, 认识仍非常不足.

3 神经退行性疾病相关蛋白质翻译后修饰的异质化效应

翻译后修饰参与了淀粉样蛋白聚集体构象多态性的调控. 功能性分子以共价结合的方式丰富了蛋白质的化学结构, 包括添加化学官能团(乙酰化、甲基化、糖基化等)、引入其他蛋白质或多肽(泛素化、类泛素化等)、改变氨基酸的分子结构(异构化、外消旋化等)、改变蛋白质结构(肽链的剪切、酶解与偶联、二

硫键的形成与断裂等), 拓展了蛋白质的生物学功能^[50,70,71]. 蛋白质翻译后修饰的调控异常与多种神经退行性疾病的发生发展密切相关, 如AD和PD等^[72,73]. 翻译后修饰直接调控神经退行性疾病关键淀粉样蛋白A β 、tau、 α -synuclein等的聚集动力学过程, 影响它们的动态结构, 改变神经细胞炎症效应与凋亡进程^[72~74]. 临床研究表明, 淀粉样蛋白的翻译后修饰谱系展现出高度的异质性. 这种异质性体现为同一种蛋白质在不同类型的神经退行性疾病中的翻译后修饰种类和位点具有差异, 也体现为同一种蛋白质在相同疾病不同发展阶段的翻译后修饰种类与位点具有差异^[50]. 揭示翻译后修饰的异质性效应, 对于理解淀粉样蛋白的病理聚集机制, 解析神经退行性疾病的复杂病理过程具有重要意义, 为针对不同病程阶段的神经退行性疾病进行个性化治疗方案提供了科学依据.

3.1 翻译后修饰对淀粉样蛋白病理性聚集发挥关键的调控作用

体内外研究进展表明神经退行性疾病涉及的淀粉样蛋白的翻译后修饰与病理机制之间存在紧密关联. 常见的淀粉样蛋白翻译后修饰类型丰富, 包括: (1) 磷酸化. Tau蛋白在高度磷酸化状态下易在神经元内部聚集, 形成纤维缠结, 这是AD的一个显著的病理特征. α -Synuclein的第39位Tyr磷酸化调控了淀粉样蛋白聚集体结构, 进一步影响其功能^[49]; (2) 乙酰化. 乙酰化的tau蛋白能够逃逸分子伴侣介导的蛋白质降解途径, 这可能导致其在细胞内异常积累, 进而引发疾病相关病理变化^[75]; (3) 糖基化. 常见的糖基化修饰包括N-糖基化和O-糖基化, 其中N-糖基化常见于天冬酰胺残基, 而O-糖基化常见的修饰位点是丝氨酸或苏氨酸的残基^[76,77]; (4) 泛素化与类泛素化. 泛素化及SUMO修饰调控APP和tau蛋白的稳态. 泛素化与类泛素化修饰的失衡可能导致蛋白质的错误折叠和异常积累^[75]; (5) 氧化. A β 的第35位Met氧化修饰能够抑制其聚集能力^[78]; (6) 焦谷氨酰化. 3位焦谷氨酰化修饰的A β (3pE-A β)展现出与星形胶质细胞更强的结合亲和力^[78].

翻译后修饰在蛋白质功能调控中扮演了多重角色, 具体包括调控蛋白质的聚集潜能, 促进聚集结构的形成, 改变蛋白质在细胞与组织中的空间分布等功能. AD的重要生物标志物A β 通过特定的化学修饰来调节

其聚集状态。Met35的氧化、Ser26的磷酸化修饰抑制A β 聚集;相反,Ser8的磷酸化、Tyr10的亚硝基化、Asp的异构化、Ser26的外消旋化以及N-末端的焦谷氨酰化修饰则促进A β 聚集^[78]。AD的另一种重要生物标志物tau蛋白的异常磷酸化与AD的发生密切相关,尤其是血浆中第181位磷酸化tau蛋白、第217位磷酸化tau蛋白、第231位磷酸化的tau蛋白。它们作为临床AD谱系中淀粉样蛋白和tau蛋白病理学的指标,有助于区分AD和其他神经退行性疾病^[79]。Tau蛋白不仅受磷酸化影响,还涉及受到其他翻译后修饰的影响,如乙酰化、糖基化、脱酰胺化、异构化等^[80]。在PD中,主要标志物 α -synuclein蛋白也经历多种翻译后修饰,包括磷酸化、乙酰化、泛素化和糖基化^[81]。N-糖基化修饰与O-糖基化修饰对tau蛋白聚集的调控作用不同^[77]。AD患者大脑来源的tau蛋白的N-糖基化修饰改变tau蛋白的构象,促进tau蛋白发生过度磷酸化,驱动tau蛋白聚集形成PHFs^[73,82]。另一方面,tau蛋白的O-糖基化则减弱tau蛋白的聚集。细胞与捐献者脑组织样本研究表明正常状态下tau蛋白的O-GlcNAc修饰与磷酸化修饰维持在平衡状态,且O-GlcNAc修饰负调控tau蛋白中大部分磷酸化位点发生磷酸化修饰^[76,83]。AD患者脑组织来源的tau蛋白的O-GlcNAc修饰水平显著降低,AD模型鼠海马区tau蛋白的O-GlcNAc修饰与磷酸化修饰稳态发生失衡^[84~86]。内源性 α -synuclein通常在N-末端发生乙酰化^[87]。路易氏体内的 α -synuclein纤维聚集体在第129位Ser发生磷酸化修饰,并在N-末端发生泛素化修饰^[88,89]。在 α -synuclein蛋白非淀粉样区域的特定位点(如第72位Thr和第87位Ser)发生O-GlcNAc糖基化修饰减缓或抑制 α -synuclein纤维状聚集^[90]。此外, α -synuclein蛋白的多个位点均能发生磷酸化,如第39位Tyr、第87位Ser、第125位Tyr、第129位Ser、第133位Tyr、第135位Tyr^[91~94]。这些磷酸化修饰对调控 α -synuclein的病理性具有重要性,如第39位Tyr磷酸化修饰的 α -synuclein更倾向于在散发性PD患者脑部与路易氏体内积累^[92]。

3.2 阐明淀粉样蛋白翻译后修饰的异质化效应是解析神经退行性疾病致病机制的关键

翻译后修饰对神经退行性疾病相关淀粉样蛋白的生理和病理功能发挥着重要的调控功能。基于质谱的蛋白组学相关研究表明临床样本来源的淀粉样蛋白的

翻译后修饰图谱展现出显著的异质性特征^[50]。通过比较不同疾病类型(皮质基底节变性和AD)以及同种疾病类型不同患者来源的tau原丝,发现不同疾病来源、同种疾病不同患者来源的tau原丝中 β 链的氨基酸序列高度相似,但翻译后修饰类型、修饰位点显著不同^[50]。翻译后修饰的差异导致tau蛋白错误折叠和自组装形成的纤维表现出结构差异性^[50]。不同人群、不同疾病类型以及不同病程来源的内源性淀粉样蛋白的翻译后修饰在修饰数量、具体修饰位点以及修饰类型等方面上呈现出差异性^[50]。相关研究表明AD患者的tau蛋白翻译后修饰图谱相较于健康个体具有独特的标志特征。这些特征性的翻译后修饰随AD的病程发展而动态变化,逐步演化^[72]。研究人员应用高分辨率定量蛋白质组学技术分析捐献者(包括49名AD患者组成的AD组,42名健康个体构成的对照组)脑组织样本中分离的tau蛋白^[72]。累计鉴定tau蛋白上分布于88个特定位点的95种不同的翻译后修饰模式,包括55个磷酸化位点、17个泛素化位点、19个乙酰化位点和4个甲基化位点^[72]。依据Braak分期标准的划分疾病进展阶段,tau蛋白的翻译后修饰从正常生理功能相关的磷酸化逐步发展为与轻度认知障碍相关的T181位磷酸化以及涉及更为严重病理表型的磷酸化(S262和S263)、乙酰化(K311、K353和K369)和泛素化(K259、K267、K311和K317)等(图10)^[72]。对从PD和各种 α -突触核蛋白病患者脑中提取纯化的 α -synuclein进行LC-MS/MS分析和细胞转染表达,揭示了 α -synuclein的翻译后修饰能够以位点和构象特异性的方式显著改变病理性 α -synuclein的聚集和传播^[73]。翻译后修饰调控了可溶性 α -synuclein被病理性聚集种子招募参与聚集的能力。携带翻译后修饰的可溶性 α -synuclein通过掺入到病理性 α -synuclein聚集也影响聚集体的传播性质^[73]。上述研究发现突显了淀粉样蛋白翻译后修饰的异质性效应在神经退行性疾病进展中的重要性。

4 翻译后修饰对淀粉样蛋白聚集体构象多态性的调控机制

蛋白质的翻译后修饰具有可逆性,随疾病发生和发展动态演化。在疾病不同进展时期,翻译后修饰的数量和种类表现出动态变化的规律^[72]。目前在精准鉴定患者来源的病理性蛋白质样品所展现的高度异质性

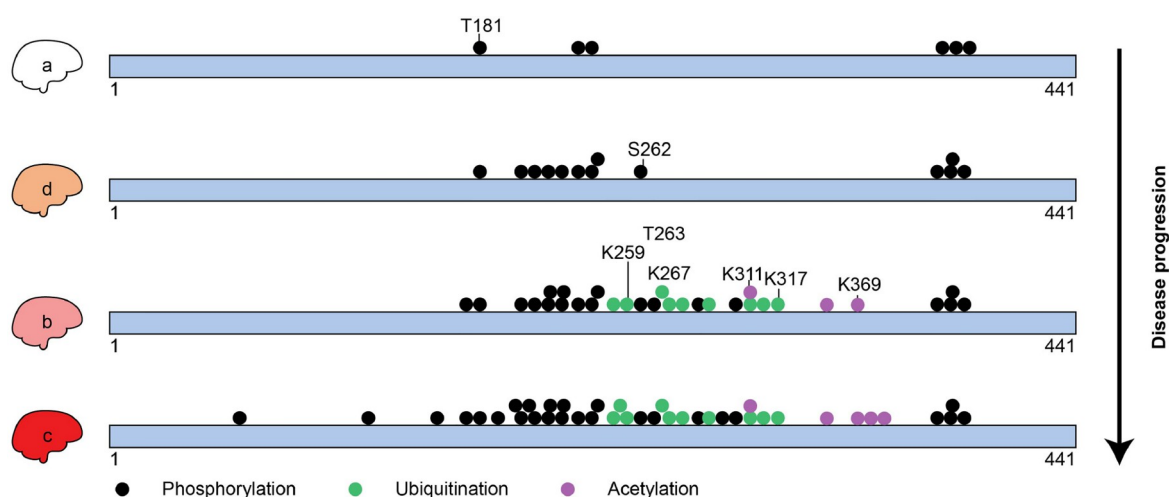


图 10 (网络版彩图)不同翻译后修饰在不同疾病阶段的顺序积累示意图。随着疾病的进展, tau蛋白磷酸化位点增加, 并出现乙酰化和泛素化修饰^[72]

Figure 10 (Color online) Schematic illustration of the sequential accumulation of different posttranslational modifications at different stages of disease. As the disease progresses, tau protein phosphorylation sites increase with the occurrence of acetylation and ubiquitination ^[72].

翻译后修饰及高分辨率的结构解析方面存在显著不足^[26]。因此, 阐述翻译后修饰如何在病理条件下调控致病淀粉样蛋白聚集体的构象多态性仍然是本领域亟待攻克的难点和重点。为揭示翻译后修饰对淀粉样蛋白聚集结构多态性的调控规律, 现阶段相关结构解析主要是基于体外的模式化研究体系(化学合成、原核表达蛋白、真核表达蛋白), 研究蛋白质翻译后修饰的变化规律, 为理解复杂的病理过程奠定基础。

获得特定位点携带特定类型翻译后修饰的蛋白质样品是开展翻译后修饰调控构象多态性研究的关键。原核表达体系缺乏真核表达体系所特有的蛋白翻译后的修饰系统, 而真核表达体系中蛋白质的翻译后修饰是高度异质性的、可控性差^[95]。因此必须要发展新型化学生物学方法获得修饰类型可控、修饰位点可控的蛋白质样品。在PD患者的脑组织中, α -synuclein淀粉样聚集体的39位酪氨酸有高丰度的磷酸化修饰(pY39)。为解析pY39对 α -synuclein淀粉样聚集的调控规律, Zhao等^[49]发展化学半合成方法, 将基于Fmoc化学固相合成的C-末端酰胺化修饰的 α -synuclein 1-29、携带pY39的C-末端酰胺化修饰的 α -synuclein A30C-52片段、原核表达纯化的 α -synuclein A53C-140片段按N-末端到C-末端的顺序进行自然化学连接。自然化学连接反应使C-末端肽酰肼和N-末端半胱氨酸之间发生偶联, 偶联产物发生共价键重排, 在两个肽段之间产生

肽键, 获得携带pY39的 α -synuclein蛋白(图11a)。使用cryo-EM技术解析 α -synuclein pY39纤维结构。对原纤维螺旋图像进行的二维分类揭示了两种主要的扭曲原纤维结构(占总数80%以上): 一种由两条原丝组成, 被称为扭曲二聚体; 另一种由三条原丝组成, 被称为扭曲三聚体(图11b)。此外, 还有一类直形原纤维(占比小于20%), 由两条平行排列的原丝组成。三维螺旋重构得到空间分辨率为3.22 Å的扭曲二聚体原纤维精细结构和空间分辨率为3.37 Å的扭曲三聚体原纤维精细结构。根据电子态密度图建立的原子模型显示两种结构中单根原丝中 α -synuclein单体的原子排列几乎相同。扭转二聚体和扭转三聚体中原丝之间的界面结构相同, 均由E57和K58形成的盐桥组成。两者的螺旋扭转度和螺旋上升度也相同。上述结果表明扭转三聚体原丝是由一条额外的原丝缠绕在扭转二聚体原丝周围形成(图11b)^[49]。第39位的磷酸化显著改变了 α -synuclein的纤维结构, 使其整体拓扑结构不同于任何已知的全长 α -synuclein或C-末端截短的 α -synuclein野生型或突变体形成的原纤维结构^[49]。先前报道的 α -synuclein原纤维的多态性结构核心是由一个共同的片段组成, 该片段包括了从第37到第99位残基^[96]。核心片段折叠成各种紧密堆积结构, 从而形成了多种异质性的 α -synuclein原纤维结构。但在pY39 α -synuclein原纤维结构中, 第1-100位残基全部参与形成了纤维核心区域, 构成了具

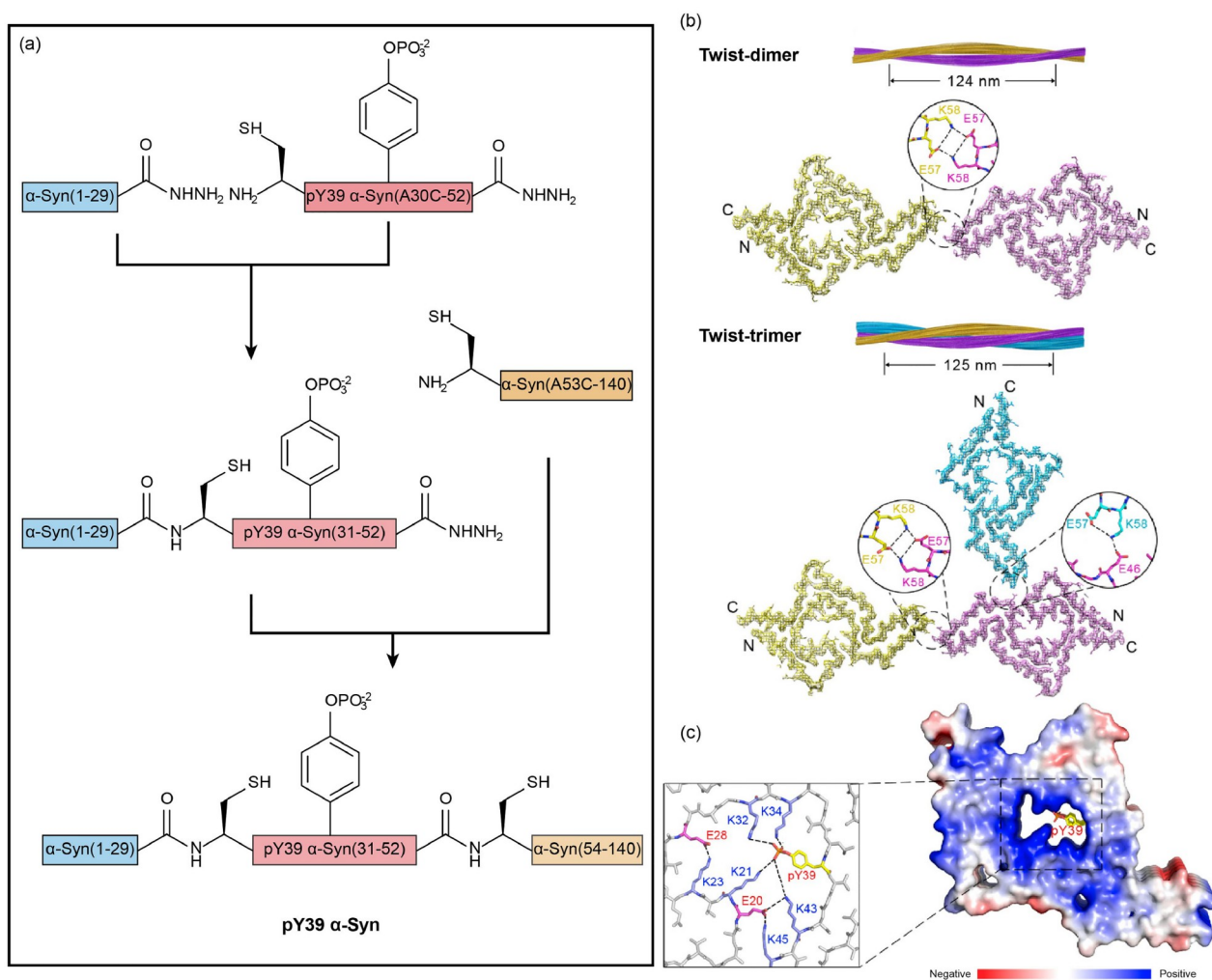


图 11 (网络版彩图)翻译后修饰对 α -synuclein淀粉样聚集的调控规律^[49]. (a) pY39 α -synuclein的合成路线^[49]. (b) 扭曲二聚体(上)和扭曲三聚体(下)原纤维的cryo-EM结构^[49]. (c) pY39 α -synuclein聚集体的静电表面图. 中心的极性孔显示在放大视图中, 带电荷的残基和静电相互作用被标记^[49]

Figure 11 (Color online) Modulation of α -synuclein amyloid aggregation by posttranslational modification ^[49]. (a) Synthetic route of pY39 α -synuclein ^[49]. (b) Cryo-EM structures of twist-dimer (top) and twist-trimer (bottom) protofilaments ^[49]. (c) The electrostatic surface of pY39 α -synuclein aggregates. The positive hole at the center is shown in a zoom-in view, and the charged residues and electrostatic interactions are labeled ^[49].

有稳定勾状结构的纤维聚集体. N-末端区域的参与扩大了原纤维聚集核心尺寸, 显著增加了带电残基的比例. 磷酸化进一步将Y39修饰为带负电荷的残基. pY39 α -synuclein的8个带电残基(6个赖氨酸和2个谷氨酸)加上pY39折叠在原纤维核心中心形成亲水通道(图11c)^[49]. α -Synuclein的S129位磷酸化修饰(pS129)也是PD重要病理标志之一^[97]. 为研究pS129对 α -synuclein病理机制的调控作用, 通过化学半合成法获得pS129 α -synuclein. pS129 α -synuclein聚集体与细胞膜表面受体LAG3的D1结构域(L3D1)、受体蛋白淀粉样

前体样蛋白-1(APLP-1)的E1结构域之间的亲和力较强, L3D1与APLP-1介导了 α -synuclein纤维在细胞间的传播. NMR滴定结果显示 α -synuclein的C-末端区域是APLP-1 E1的结合位点. 第129位磷酸化显著提高了 α -synuclein纤维与APLP-1的亲和力, K_D 值从 46.7 ± 0.7 nM下降至 2.0 ± 0.2 nM. 上述结果表明 α -synuclein C-末端通过静电相互作用与细胞膜受体结合. 第129位磷酸化修饰导致 α -synuclein纤维发生构象变化, 通过加强静电相互作用显著促进 α -synuclein纤维与细胞膜受体之间的结合^[97].

通过应用化学半合成方法可以获得单一位点携带不同种类化学修饰的蛋白质聚集体, 开展化学修饰种类调控淀粉样蛋白聚集的相关研究。为研究 α -synuclein同一位点(S87)发生的异质性翻译后修饰(糖基化gS87和磷酸化pS87)对蛋白聚集体构象多态性的影响, 2024年, Hu等^[98]合成携带gS87的C-末端酰肼化修饰的 α -synuclein A85C-90片段, 携带pS87的C-末端酰肼化修饰的 α -synuclein A85C-90片段, 以及原核表达纯化-疏解产生的末端硫酸化修饰的 α -synuclein 1-84片段和 α -synuclein A91C-140片段。按从N-末端到C-末端的顺序进行自然化学连接合成第87位带有翻译后修饰的 α -synuclein(图12a)。利用cryo-EM测定gS87 α -synuclein和pS87 α -synuclein聚集形成的原纤维高分辨率结构。对比三维螺旋重构获得的gS87 α -synuclein和pS87 α -synuclein原纤维的空间结构模型, 发现 α -synuclein在两种原纤维结构中表现出两种不同的折叠构象(图12b)^[98]。在gS87 α -synuclein原纤维中, α -synuclein在核心结构中采用保守的熨斗样折叠, 修饰的GlcNAc分子位于“熨斗”柄部。GlcNAc的高电子密度表明其在核心结构中的构象自由度较低。GlcNAc分子沿原纤维轴向排列, 分子间距离为4.82 Å。纤维核心由残基E35至A89组成, 折叠成4条 β 链(β 1- β 4)。在纤维核心的外表面上观察到一个未指定的区域, 与 β 2(残基48~57)相邻。两个相同的原丝相互缠绕形成gS87 α -synuclein纤维。gS87 α -synuclein相邻原丝之间的距离超过15 Å, 表明两个原丝之间的相互作用相对较弱。在pS87 α -synuclein原纤维中, α -synuclein原纤维核心中采用拱形折叠, 由M1至T72残基折叠成7条 β 链(β 1- β 7)。与在相同条件下形成的gS87 α -synuclein原纤维不同, pS87 α -synuclein原纤维中完整的N-末端区域参与了原纤维核心的形成。而磷酸化的S87被排除在原纤维核心之外, 构象自由度高且对cryo-EM的电子态密度贡献低。pS87 α -synuclein的两条原丝通过残基V3、M5、L38和V40侧链发生相互作用。综上所述, 同一位点上的异质性翻译后修饰会导致 α -synuclein的折叠构象及分子的空间排列表现出显著的差异性^[98]。2021年, Liu等^[74]发现糖基化修饰通过提供空间位阻动态调控A β 淀粉样聚集的多态性构象。通过固相合成三种携带糖基化修饰的A β 42, 包括单糖O-GalNAc糖型A β 42、双糖O-Gal β 1-3GalNAc糖型A β 42及三糖O-NeuAc α 2-3Gal β 1-3GalNAc糖型A β 42。利用cryo-EM测定A β 42原纤维的高分辨率结构。

与未修饰的A β 42原纤维结构相比, O-Gal β 1-3GalNAc糖型A β 42原纤维由三条 β 链组成, 排列成蛇形折叠(图12c)。第10位Tyr的双糖修饰导致与相邻第9位Gly的空间位阻增大, 使肽链在第9位Gly形成尖锐的扭结。相比之下, 未修饰的A β 42的第9位Gly形成一个较小的弯曲, 1-9片段采用 β -构象, 包裹在33-37片段周围, 形成更大、更稳定的纤维核心(图12d)。糖基化增大其与相邻氨基酸残基的空间位阻, 导致A β 42纤维核心结构发生重排, 改变聚集体结构^[74]。

基于单位点翻译后修饰的研究为揭示生理或病理条件下蛋白质高度异质性的翻译后修饰对聚集体构象多态性的调控规律奠定了基础。近年来, 研究阐明多位点翻译后修饰调控纤维聚集体构象多态性的协同效应。2016年, Yu等^[99]使用STM解析了串联重复序列原始片段VNTR (p-VNTR)和在第9位Thr修饰T抗原双糖、第15位Ser修饰Tn抗原单糖的双位点糖基化VNTR (g-VNTR) (图13a)。基于STM技术的单分子成像研究p-VNTR和g-VNTR的组装特性, 并使用小分子4,4'-联吡啶(4Bpy)标记多肽的C-末端。p-VNTR和g-VNTR聚集体的链间距分别为 0.47 ± 0.02 nm和 0.49 ± 0.02 nm (图13b)。p-VNTR β 链的长度分布范围在4.3~4.7 nm, 最大概然分布为4.55 nm (图13b)。p-VNTR聚集体的 β 链从第7位Pro到第20位Ala。受双糖修饰调控, g-VNTR的 β 链长度分布直方图呈现出双峰, 对应于两个离散长度(1.4~1.8 nm和3.4~3.8 nm)。g-VNTR聚集体的 β 链区域包括了从第10位Arg到第20位Ala以及第16位Thr到第20位Ala(图13c)^[99]。

5 总结与展望

解析蛋白质聚集体的构象多态性对于认识淀粉样蛋白的病理机制具有重要意义, 为神经退行性疾病相关靶向药物的研发提供了关键的科学依据。翻译后修饰为淀粉样蛋白的化学结构引入了动态变化, 调控了蛋白质的聚集动力学过程和聚集体结构。因而, 研究翻译后修饰与淀粉样蛋白聚集体构象多态性之间的关联规律是阐明蛋白质构象转变调控机制的重要基础。基于临床样本的研究表明淀粉样蛋白在不同病理表型、不同病理阶段的翻译后修饰位点与类型展示出显著的异质性特征。探究病理条件下翻译后修饰异质化效应对蛋白质聚集体的构象多态性的调控机制, 建立

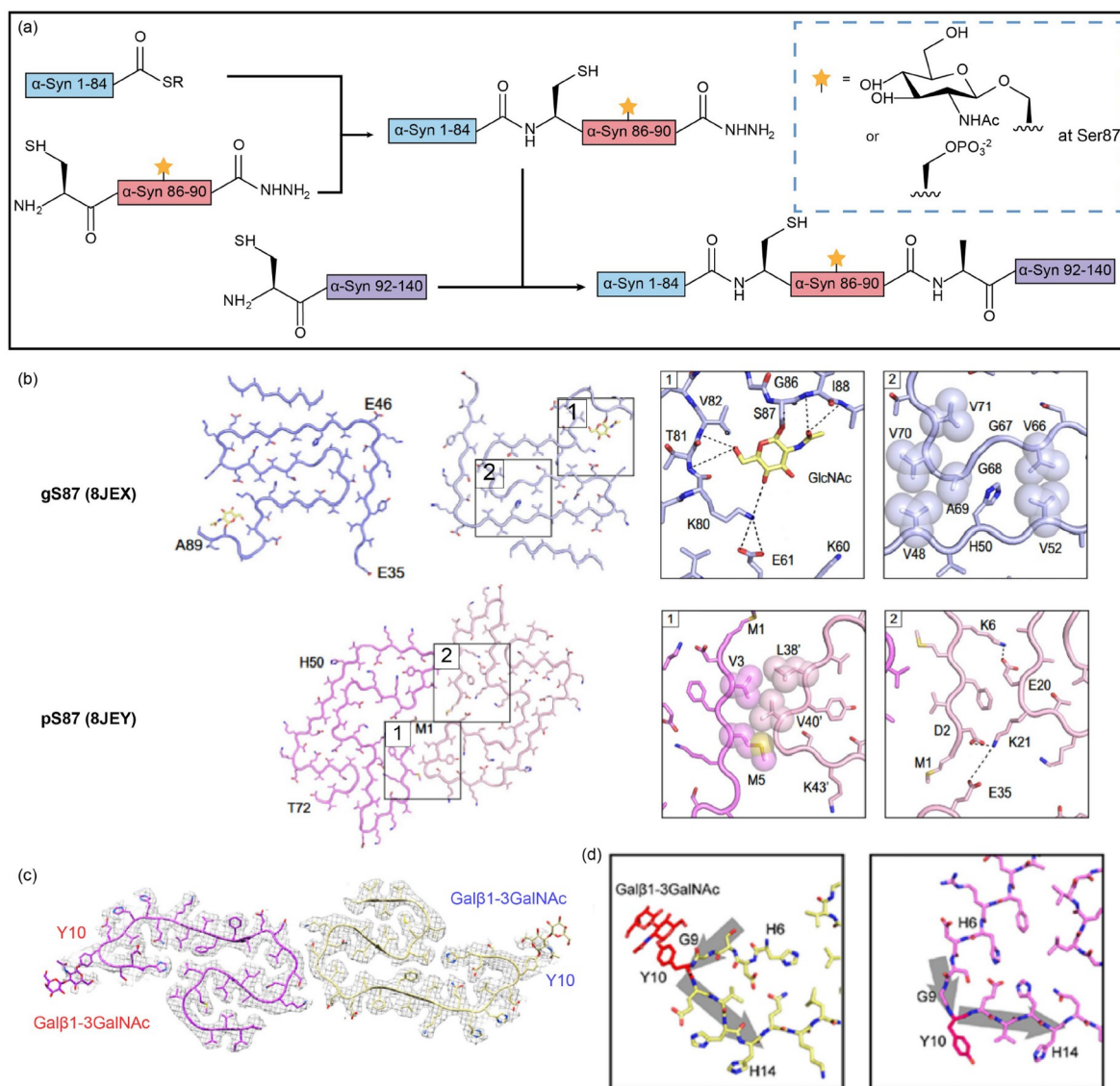


图 12 (网络版彩图) 单位点不同种类化学修饰对 α -synuclein 聚集的调控规律^[74,98]. (a) S87 位携带不同修饰的 α -synuclein 的合成路线^[98]. (b) gS87 α -synuclein 与 pS87 α -synuclein 纤维的 cryo-EM 结构. 上: gS87 α -synuclein 原纤维结构, 放大图为 GlcNAc 和相邻残基之间的相互作用. 下: pS87 α -synuclein 原纤维结构, 放大图为两根原丝之间界面处的疏水作用与盐桥. 参与原丝间相互作用的残基用球表示^[98]. (c) O-Gal β 1-3GalNac 糖型 $\text{A}\beta$ 42 原纤维 cryo-EM 结构的横切面图^[74]. (d) 与野生型的 $\text{A}\beta$ 42 原纤维结构(下)相比, Tyr10 的双糖修饰诱导 O-Gal β 1-3GalNac 糖型 $\text{A}\beta$ 42 原纤维(上)核心中的 Gly9 形成尖锐的扭结^[74].

Figure 12 (Color online) Modulation of α -synuclein aggregation by different chemical modifications at a single site^[74,98]. (a) Synthetic route of α -synuclein mutants with modifications at S87^[98]. (b) Cryo-EM structures of gS87 and pS87 α -synuclein fibrils. Top: The structure of gS87 α -synuclein fibril. The interactions between GlcNAc and neighboring residues are shown in the zoom-in views. Bottom: The structure of pS87 α -synuclein fibril. The hydrophobic interactions and salt bridges at the interface between two protofilaments are shown in the zoom-in views. Residues involved in the inter protofilament interactions are represented by spheres^[98]. (c) Cross-section view of the cryo-EM structure of O-Gal β 1-3GalNac $\text{A}\beta$ 42 fibrils^[74]. (d) Disaccharide modification at Tyr10 induces Gly9 to form a sharp kink in the core region of O-Gal β 1-3GalNac $\text{A}\beta$ 42 fibril (top) compared to that of the wild type $\text{A}\beta$ 42 fibril (bottom)^[74].

翻译后修饰调控蛋白质病理性聚集多态性理论, 有望为神经退行性疾病的预防、诊断和治疗提供可行途径.

开展基于临床样本的基础研究是该研究领域未来

发展的重要方向之一. 现阶段淀粉样蛋白聚集体结构解析主要依赖于化学合成、原核表达蛋白等模型化研究体系, 而对人脑组织分离获得的内源性蛋白质聚集

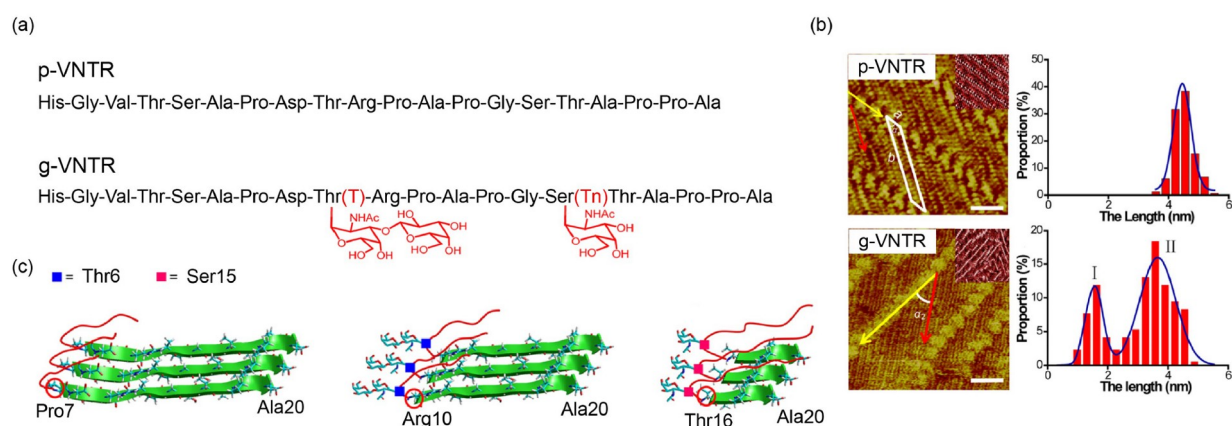


图 13 (网络版彩图) 多位点翻译后修饰调控聚集体构象多态性^[99]. (a) p-VNTR和g-VNTR的序列. 红色突出两个糖基化位点及结构^[99]. (b) p-VNTR和g-VNTR聚集体的高分辨率STM成像. 比例尺为2 nm. 由STM图像测定的p-VNTR和g-VNTR β 链的长度分布^[99]. (c) p-VNTR和g-VNTR的结构模型. 顶部: p-VNTR的折叠模型; 中间及底部: g-VNTR分别在Arg10 (中间)和Thr16 (底部)发生折叠的结构模型. 绿色条带代表 β 结构, 柔性的红色线代表STM观测中不可分辨的片段. 蓝色和粉色方块分别表示糖基化残基Thr9和Ser15^[99].

Figure 13 (Color online) Post-translational modifications at different sites regulate the conformational polymorphisms of aggregates [99]. (a) The sequences of p-VNTR and g-VNTR. The location and structure of the two saccharide moieties are highlighted by red [99]. (b) High-resolution STM images of either p-VNTR or g-VNTR aggregates. The scale bar is 2 nm. The β strand length distributions of p-VNTR and g-VNTR are determined from STM images [99]. (c) Structural models of p-VNTR and g-VNTR. Top: the model of p-VNTR folding structure; Middle and bottom: the structural models of p-VNTR with the folding sites at either Arg10 (middle) or Thr16 (bottom). The green ribbon represents the β structure. The flexible red strings represent the indiscernible segments in the STM observations. The blue and pink rectangles highlight the glycosylated residues Thr9 and Ser15, respectively [99].

体开展的高分辨结构解析研究仍然相对缺乏. 模型化研究体系难以模拟生理或病理条件下蛋白质翻译后修饰随疾病发生和发展表现出的动态变化, 所以基于捐献者脑组织样本的研究对于揭示翻译后修饰调控蛋白质病理性聚集多态性及其病理机制具有不可替代的重要意义. 当前对有限例数的内源性聚集体结构开展的研究工作不足以揭示不同病理表型、不同疾病进程中翻译后修饰调控蛋白质聚集体构象多态性的变化规律, 亟需开展系统性研究. 此外, 由于不同国家与地区的人群体质特征存在群体差异, 基于中国人群的捐献脑组织样本的结构学研究尤显重要.

对捐献者来源的蛋白质样品高度异质性翻译后修饰的鉴定及高分辨率的结构解析是对内源性蛋白质聚集体样本开展研究的技术难点, 亟需发展新技术、新方法用以鉴定复杂环境下的淀粉样蛋白翻译后修饰的

异质化效应及多态性构象. 需要发展相对温和的淀粉样聚集体的分离和纯化方法, 减少提取与纯化过程对捐献者来源的聚集体结构的破坏与干扰. 基于脑脊液来源的聚集体构象复制技术与基于类器官的聚集体扩增技术将助力揭示疾病不同进展时期的内源性聚集体构象多态性. 系统性运用蛋白组、翻译后修饰组、代谢组等多组学研究手段鉴定疾病不同进展阶段的临床分离样本, 揭示淀粉样蛋白翻译后修饰随疾病表型与病程的时空变化特征. 将可以在复杂环境下解析聚集体有序结构的cryo-EM螺旋重构技术, 与可解析有序性较差的蛋白质样本的STM技术联合应用, 实现对病理性聚集体多态性结构的高精度测量. 整合组学数据与高分辨率多态性结构解析结果, 有望系统性建立翻译后修饰对疾病进程中致病蛋白质聚集体多态性构象的动态变化的全局认识.

参考文献

- Willbold D, Strodel B, Schröder GF, Hoyer W, Heise H. *Chem Rev*, 2021, 121: 8285–8307
- Teunissen CE, Verberk IMW, Thijssen EH, Vermunt L, Hansson O, Zetterberg H, van der Flier WM, Mielke MM, del Campo M. *Lancet Neurol*, 2022, 21: 66–77

- 3 Wilson III DM, Cookson MR, Van Den Bosch L, Zetterberg H, Holtzman DM, Dewachter I. *Cell*, 2023, 186: 693–714
- 4 Fändrich M, Schmidt M, Grigorieff N. *Trends Biochem Sci*, 2011, 36: 338–345
- 5 Ossenkoppele R, van der Kant R, Hansson O. *Lancet Neurol*, 2022, 21: 726–734
- 6 US Food and Drug Administration. *FDA Converts Novel Alzheimer's Disease Treatment to Traditional Approval*. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-converts-novel-alzheimers-disease-treatment-traditional-approval> (accessed 2024-08-12)
- 7 Cummings J, Apostolova L, Rabinovici GD, Atri A, Aisen P, Greenberg S, Hendrix S, Selkoe D, Weiner M, Petersen RC, Salloway S. *J Prev AlzheimersDis*, 2023, 10: 362–377
- 8 Sims JR, Zimmer JA, Evans CD, Lu M, Ardayfio P, Sparks JD, Wessels AM, Shcherbinin S, Wang H, Monkul Nery ES, Collins EC, Solomon P, Salloway S, Apostolova LG, Hansson O, Ritchie C, Brooks DA, Mintun M, Skovronsky DM, Abreu R, Agarwal P, Aggarwal P, Agronin M, Allen A, Altamirano D, Alva G, Andersen J, Anderson A, Anderson D, Arnold J, Asada T, Aso Y, Atit V, Ayala R, Badruddoja M, Badzio-jagiello H, Bajacek M, Barton D, Bear D, Benjamin S, Bergeron R, Bhatia P, Black S, Block A, Bolouri M, Bond W, Bouthillier J, Brangman S, Brew B, Brisbin S, Briskin T, Brodtmann A, Brody M, Brosch J, Brown C, Brownstone P, Bukowczan S, Burns J, Cabrera A, Capote H, Carrasco A, Cevallos Yopez J, Chavez E, Chertkow H, Chyrchel-paszkievicz U, Ciabarra A, Clemmons E, Cohen D, Cohen R, Cohen I, Concha M, Costell B, Crimmins D, Cruz-pagan Y, Cueli A, Cupelo R, Czarnecki M, Darby D, Dautzenberg P, De Deyn P, De La Gandara J, Deck K, Dibenedetto D, Dibuono M, Dinnerstein E, Dirican A, Dixit S, Dobryniewski J, Drake R, Drysdale P, Duara R, Duffy J, Ellenbogen A, Faradij V, Feinberg M, Feldman R, Fishman S, Flitman S, Forchetti C, Fraga I, Frank A, Frishberg B, Fujigasaki H, Fukase H, Fumero I, Furihata K, Galloway C, Gandhi R, George K, Germain M, Gitelman D, Goetsch N, Goldfarb D, Goldstein M, Goldstick L, Gonzalez Rojas Y, Goodman I, Greeley D, Griffin C, Grigsby E, Grosz D, Hafner K, Hart D, Henein S, Herskowitz B, Higashi S, Higashi Y, Ho G, Hodgson J, Hohenberg M, Hollenbeck L, Holub R, Hori T, Hort J, Ilkowski J, Ingram KJ, Isaac M, Ishikawa M, Janu L, Johnston M, Julio W, Justiz W, Kaga T, Kakigi T, Kalafer M, Kamijo M, Kaplan J, Karathanos M, Katayama S, Kaul S, Keegan A, Kerwin D, Khan U, Khan A, Kimura N, Kirk G, Klodowska G, Kowa H, Kutz C, Kwentus J, Lai R, Lall A, Lawrence M, Lee E, Leon R, Linker G, Lisewski P, Liss J, Liu C, Losk S, Lukaszyk E, Lynch J, Macfarlane S, Macsweeney J, Mannering N, Markovic O, Marks D, Masdeu J, Matsui Y, Matsuishi K, Mcallister P, Mcconnehey B, Mcelveen A, McGill L, Mecca A, Mega M, Mensah J, Mickielewicz A, Minaeian A, Mocherla B, Murphy C, Murphy P, Nagashima H, Nair A, Nair M, Nardandrea J, Nash M, Nasreddine Z, Nishida Y, Norton J, Nunez L, Ochiai J, Ohkubo T, Okamura Y, Okorie E, Olivera E, O'mahony J, Omidvar O, Ortiz-Cruz D, Osowa A, Papka M, Parker A, Patel P, Patel A, Patel M, Patry C, Peckham E, Pfeffer M, Pietras A, Plopper M, Porsteinsson A, Poulin Robitaille R, Prins N, Puente O, Ratajczak M, Rhee M, Ritter A, Rodriguez R, Rodriguez Ables L, Rojas J, Ross J, Royer P, Rubin J, Russell D, Rutgers SM, Rutrick S, Sadowski M, Safirstein B, Sagisaka T, Scharre D, Schneider L, Schreiber C, Schrifft M, Schulz P, Schwartz H, Schwartzbard J, Scott J, Selem L, Sethi P, Sha S, Sharlin K, Sharma S, Shiovitz T, Shiwach R, Sladek M, Sloan B, Smith A, Solomon P, Sorial E, Sosa E, Stedman M, Steen S, Stein L, Stolyar A, Stoukides J, Sudoh S, Sutton J, Syed J, Szigeti K, Tachibana H, Takahashi Y, Tateno A, Taylor JD, Taylor K, Tcheremissine O, Thebaud A, Thein S, Thurman L, Toenjes S, Toji H, Toma M, Tran D, Trueba P, Tsujimoto M, Turner R, Uchiyama A, Ussorowska D, Vaishnavi S, Valor E, Vandersluis J, Vasquez A, Velez J, Verghese C, Vodickova-borzova K, Watson D, Weidman D, Weisman D, White A, Willingham K, Winkel I, Winner P, Winston J, Wolff A, Yagi H, Yamamoto H, Yathiraj S, Yoshiyama Y, Zboch M. *JAMA*, 2023, 330: 512–527
- 9 US Food and Drug Administration. *FDA approves treatment for adults with Alzheimer's disease*. <https://www.fda.gov/drugs/news-events-human-drugs/fda-approves-treatment-adults-alzheimers-disease> (accessed 2024-08-12)
- 10 Therriault J, Schindler SE, Salvadó G, Pascoal TA, Benedet AL, Ashton NJ, Karikari TK, Apostolova L, Murray ME, Verberk I, Vogel JW, La Joie R, Gauthier S, Teunissen C, Rabinovici GD, Zetterberg H, Bateman RJ, Scheltens P, Blennow K, Sperling R, Hansson O, Jack Jr CR, Rosa-Neto P. *Nat Rev Neurol*, 2024, 20: 232–244
- 11 Doggrell SA. *Expert Opin Biol Ther*, 2018, 18: 1189–1192
- 12 *An Alzheimer's Treatment Fails: "We Don't Have Anything Now" - The New York Times*. <https://www.nytimes.com/2020/02/10/health/alzheimers-amyloid-drug.html> (accessed 2024-08-08)
- 13 Knopman DS, Jones DT, Greicius MD. *Alzheimers Dement*, 2021, 17: 696–701
- 14 Fillit H, Green A. *Nat Rev Neurol*, 2021, 17: 129–130
- 15 Li D, Liu C. *Nat Rev Neurosci*, 2022, 23: 523–534
- 16 Paravastu AK, Leapman RD, Yau WM, Tycko R. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 18349–18354
- 17 Lu JX, Qiang W, Yau WM, Schwieters CD, Meredith SC, Tycko R. *Cell*, 2013, 154: 1257–1268

- 18 Yang Y, Arseni D, Zhang W, Huang M, Lövestam S, Schweighauser M, Kotecha A, Murzin AG, Peak-Chew SY, Macdonald J, Lavenir I, Garringer HJ, Gelpi E, Newell KL, Kovacs GG, Vidal R, Ghetti B, Ryskeldi-Falcon B, Scheres SHW, Goedert M. *Science*, 2022, 375: 167–172
- 19 Ke PC, Zhou R, Serpell LC, Riek R, Knowles TPJ, Lashuel HA, Gazit E, Hamley IW, Davis TP, Fändrich M, Otzen DE, Chapman MR, Dobson CM, Eisenberg DS, Mezzenga R. *Chem Soc Rev*, 2020, 49: 5473–5509
- 20 Zaman M, Khan AN, Wahiduzzaman AN, Zakariya SM, Khan RH. *Int J Biol Macromol*, 2019, 134: 1022–1037
- 21 Chiti F, Dobson CM. *Annu Rev Biochem*, 2017, 86: 27–68
- 22 Gilbert MAG, Fatima N, Jenkins J, O’Sullivan TJ, Schertel A, Halfon Y, Wilkinson M, Morrema THJ, Geibel M, Read RJ, Ranson NA, Radford SE, Hoozemans JJM, Frank RAW. *Nature*, 2024, 631: 913–919
- 23 Bhopatkar AA, Kaye R. *J Biol Chem*, 2023, 299: 105122–105141
- 24 Oren O, Taube R, Papo N. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78: 7185–7198
- 25 Al Adem K, Lee S. *Protein Sci*, 2023, 32: e4639
- 26 Li D, Liu C. *Nat Chem Biol*, 2021, 17: 237–245
- 27 Zielinski M, Röder C, Schröder GF. *J Biol Chem*, 2021, 297: 100938–100951
- 28 Ghosh U, Thurber KR, Yau WM, Tycko R. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118: e2023089118
- 29 Gremer L, Schölzel D, Schenk C, Reinartz E, Labahn J, Ravelli RBG, Tuschke M, Lopez-Iglesias C, Hoyer W, Heise H, Willbold D, Schröder GF. *Science*, 2017, 358: 116–119
- 30 Qiang W, Yau WM, Lu JX, Collinge J, Tycko R. *Nature*, 2017, 541: 217–221
- 31 Cao Q, Boyer DR, Sawaya MR, Ge P, Eisenberg DS. *Nat Struct Mol Biol*, 2019, 26: 619–627
- 32 Fitzpatrick AWP, Falcon B, He S, Murzin AG, Murshudov G, Garringer HJ, Crowther RA, Ghetti B, Goedert M, Scheres SHW. *Nature*, 2017, 547: 185–190
- 33 Shi Y, Zhang W, Yang Y, Murzin AG, Falcon B, Kotecha A, van Beers M, Tarutani A, Kametani F, Garringer HJ, Vidal R, Hallinan GI, Lashley T, Saito Y, Murayama S, Yoshida M, Tanaka H, Kakita A, Ikeuchi T, Robinson AC, Mann DMA, Kovacs GG, Revesz T, Ghetti B, Hasegawa M, Goedert M, Scheres SHW. *Nature*, 2021, 598: 359–363
- 34 Falcon B, Zhang W, Murzin AG, Murshudov G, Garringer HJ, Vidal R, Crowther RA, Ghetti B, Scheres SHW, Goedert M. *Nature*, 2018, 561: 137–140
- 35 Morcombe CR, Zilm KW. *J Magn Reson*, 2003, 162: 479–486
- 36 Schnell I. *Prog Nucl Magn Reson Spectr*, 2004, 45: 145–207
- 37 Brown SP, Spiess HW. *Chem Rev*, 2001, 101: 4125–4156
- 38 Daebel V, Chinnathambi S, Biernat J, Schwalbe M, Habenstein B, Loquet A, Akoury E, Tepper K, Müller H, Baldus M, Griesinger C, Zweckstetter M, Mandelkow E, Vijayan V, Lange A. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 13982–13989
- 39 Tuttle MD, Comellas G, Nieuwkoop AJ, Covell DJ, Berthold DA, Kloepper KD, Courtney JM, Kim JK, Barclay AM, Kendall A, Wan W, Stubbs G, Schwieters CD, Lee VMY, George JM, Rienstra CM. *Nat Struct Mol Biol*, 2016, 23: 409–415
- 40 Cheng Y. *Cell*, 2015, 161: 450–457
- 41 He S, Scheres SHW. *J Struct Biol*, 2017, 198: 163–176
- 42 Arseni D, Chen R, Murzin AG, Peak-Chew SY, Garringer HJ, Newell KL, Kametani F, Robinson AC, Vidal R, Ghetti B, Hasegawa M, Ryskeldi-Falcon B. *Nature*, 2023, 620: 898–903
- 43 Röder C, Kupreichyk T, Gremer L, Schäfer LU, Pothula KR, Ravelli RBG, Willbold D, Hoyer W, Schröder GF. *Nat Struct Mol Biol*, 2020, 27: 660–667
- 44 Jiao HS, Yuan P, Yu JT. *Mol Neurodegen*, 2023, 18: 54–66
- 45 Chang A, Xiang X, Wang J, Lee C, Arakhamia T, Simjanoska M, Wang C, Carlomagno Y, Zhang G, Dhingra S, Thierry M, Perneel J, Heeman B, Forgrave LM, DeTure M, DeMarco ML, Cook CN, Rademakers R, Dickson DW, Petrucelli L, Stowell MHB, Mackenzie IRA, Fitzpatrick AWP. *Cell*, 2022, 185: 1346–1355.e15
- 46 Jiang YX, Cao Q, Sawaya MR, Abskharon R, Ge P, DeTure M, Dickson DW, Fu JY, Ogorzalek Loo RR, Loo JA, Eisenberg DS. *Nature*, 2022, 605: 304–309
- 47 Fan Y, Zhao Q, Xia W, Tao Y, Yu W, Chen M, Liu Y, Zhao J, Shen Y, Sun Y, Si C, Zhang S, Zhang Y, Li W, Liu C, Wang J, Li D. *Cell Res*, 2022, 32: 585–588

- 48 Schweighauser M, Arseni D, Bacioglu M, Huang M, Lövestam S, Shi Y, Yang Y, Zhang W, Kotecha A, Garringer HJ, Vidal R, Hallinan GI, Newell KL, Tarutani A, Murayama S, Miyazaki M, Saito Y, Yoshida M, Hasegawa K, Lashley T, Revesz T, Kovacs GG, van Swieten J, Takao M, Hasegawa M, Ghetti B, Spillantini MG, Ryskeldi-Falcon B, Murzin AG, Goedert M, Scheres SHW. *Nature*, 2022, 605: 310–314
- 49 Zhao K, Lim YJ, Liu Z, Long H, Sun Y, Hu JJ, Zhao C, Tao Y, Zhang X, Li D, Li YM, Liu C. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117: 20305–20315
- 50 Arakhamia T, Lee CE, Carlomagno Y, Kumar M, Duong DM, Wesseling H, Kundinger SR, Wang K, Williams D, DeTure M, Dickson DW, Cook CN, Seyfried NT, Petrucelli L, Steen JA, Fitzpatrick AWP. *Cell*, 2021, 184: 6207–6210
- 51 Bäuerlein FJB, Saha I, Mishra A, Kalemanov M, Martínez-Sánchez A, Klein R, Dudanova I, Hipp MS, Hartl FU, Baumeister W, Fernández-Busnadiego R. *Cell*, 2017, 171: 179–187.e10
- 52 Guo Q, Lehmer C, Martínez-Sánchez A, Rudack T, Beck F, Hartmann H, Pérez-Berlanga M, Frottin F, Hipp MS, Hartl FU, Edbauer D, Baumeister W, Fernández-Busnadiego R. *Cell*, 2018, 172: 696–705.e12
- 53 Trinkaus VA, Riera-Tur I, Martínez-Sánchez A, Bäuerlein FJB, Guo Q, Arzberger T, Baumeister W, Dudanova I, Hipp MS, Hartl FU, Fernández-Busnadiego R. *Nat Commun*, 2021, 12: 2110–2119
- 54 Erwin A, Chang M, Fernandez M, Attili D, Russ J, Sutanto R, Pinarbasi E, Bekier M, Brant T, Hahn T, Dykstra M, Thomas D, Li X, Baldridge R, Tank E, Barmada S, Mosalaganti S. *bioRxiv*, 2024, 2024.08.19
- 55 Tao Y, Xia W, Zhao Q, Xiang H, Han C, Zhang S, Gu W, Tang W, Li Y, Tan L, Li D, Liu C. *Nat Chem Biol*, 2023, 19: 1235–1245
- 56 Binnig G, Rohrer H. *Surf Sci*, 1983, 126: 236–244
- 57 Qiu X, Wang C, Zeng Q, Xu B, Yin S, Wang H, Xu S, Bai C. *J Am Chem Soc*, 2000, 122: 5550–5556
- 58 Zhang W, Wang R, Liu M, Li S, Vokoun AE, Deng W, Dupont RL, Zhang F, Li S, Wang Y, Liu Z, Zheng Y, Liu S, Yang Y, Wang C, Yu L, Yao Y, Wang X, Wang C. *Sci Adv*, 2023, 9: eadg7943
- 59 Yu L, Wang R, Li S, Kara UI, Boerner EC, Chen B, Zhang F, Jian Z, Li S, Liu M, Wang Y, Liu S, Yang Y, Wang C, Zhang W, Yao Y, Wang X, Wang C. *ACS Cent Sci*, 2023, 9: 1480–1487
- 60 Yu L, Zhang W, Luo W, Dupont RL, Xu Y, Wang Y, Tu B, Xu H, Wang X, Fang Q, Yang Y, Wang C, Wang C. *Sci Adv*, 2020, 6: eabc1449
- 61 Anfinsen CB. *Science*, 1973, 181: 223–230
- 62 Adamcik J, Mezzenga R. *Angew Chem Int Ed*, 2018, 57: 8370–8382
- 63 Finkelstein AV, Bogatyreva NS, Ivankov DN, Garbuzynskiy SO. *Biophys Rev*, 2022, 14: 1255–1272
- 64 Gallardo R, Iadanza MG, Xu Y, Heath GR, Foster R, Radford SE, Ranson NA. *Nat Struct Mol Biol*, 2020, 27: 1048–1056
- 65 Arseni D, Hasegawa M, Murzin AG, Kametani F, Arai M, Yoshida M, Ryskeldi-Falcon B. *Nature*, 2022, 601: 139–143
- 66 Wilkinson M, Xu Y, Thacker D, Taylor AIP, Fisher DG, Gallardo RU, Radford SE, Ranson NA. *Cell*, 2023, 186: 5798–5811.e26
- 67 Lövestam S, Li D, Wagstaff JL, Kotecha A, Kimanius D, McLaughlin SH, Murzin AG, Freund SMV, Goedert M, Scheres SHW. *Nature*, 2024, 625: 119–125
- 68 Jian Z, Wang R, Mo S, Deng Z, Li S, Li Z, Wang M, Yang Y, Wang C, Zhang W, Yu L, Wang C. *Mater Today Phys*, 2024, 44: 101437–101442
- 69 Fan Y, Sun Y, Yu W, Tao Y, Xia W, Liu Y, Zhao Q, Tang Y, Sun Y, Liu F, Cao Q, Wu J, Liu C, Wang J, Li D. *Structure*, 2023, 31: 78–87.e5
- 70 Zecha J, Bayer FP, Wiechmann S, Woortman J, Berner N, Müller J, Schneider A, Kramer K, Abril-Gil M, Hopf T, Reichart L, Chen L, Hansen FM, Lechner S, Samaras P, Eckert S, Lautenbacher L, Reinecke M, Hamood F, Prokofeva P, Vornholz L, Falcomatà C, Dorsch M, Schröder A, Venhuizen A, Wilhelm S, Médard G, Stoeckl G, Ruland J, Grüner BM, Saur D, Buchner M, Ruprecht B, Hahne H, The M, Wilhelm M, Kuster B. *Science*, 2023, 380: 93–101
- 71 Beltrao P, Albanèse V, Kenner LR, Swaney DL, Burlingame A, Villén J, Lim WA, Fraser JS, Frydman J, Krogan NJ. *Cell*, 2012, 150: 413–425
- 72 Wesseling H, Mair W, Kumar M, Schlaffner CN, Tang S, Beerepoot P, Fatou B, Guise AJ, Cheng L, Takeda S, Muntel J, Rotunno MS, Dujardin S, Davies P, Kosik KS, Miller BL, Berretta S, Hedreen JC, Grinberg LT, Seeley WW, Hyman BT, Steen H, Steen JA. *Cell*, 2020, 183: 1699–1713.e13
- 73 Zhang S, Zhu R, Pan B, Xu H, Olufemi MF, Gathagan RJ, Li Y, Zhang L, Zhang J, Xiang W, Kagan EM, Cao X, Yuan C, Kim SJ, Williams CK, Magaki S, Vinters HV, Lashuel HA, Garcia BA, James Petersson E, Trojanowski JQ, Lee VMY, Peng C. *Nat Neurosci*, 2023, 26: 213–225
- 74 Liu D, Wei Q, Xia W, He C, Zhang Q, Huang L, Wang X, Sun Y, Ma Y, Zhang X, Wang Y, Shi X, Liu C, Dong S. *J Am Chem Soc*, 2021, 143: 20216–20223
- 75 Min SW, Chen X, Tracy TE, Li Y, Zhou Y, Wang C, Shirakawa K, Minami SS, Defensor E, Mok SA, Sohn PD, Schilling B, Cong X, Ellerby L, Gibson BW, Johnson J, Krogan N, Shamloo M, Gestwicki J, Masliah E, Verdin E, Gan L. *Nat Med*, 2015, 21: 1154–1162

- 76 Liu F, Iqbal K, Grundke-Iqbal I, Hart GW, Gong CX. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 10804–10809
- 77 Zhao J, Lang M. *Cell Death Discov*, 2023, 9: 314–327
- 78 Kummer MP, Heneka MT. *Alzheimers Res Ther*, 2014, 6: 28–36
- 79 Mielke MM, Frank RD, Dage JL, Jeromin A, Ashton NJ, Blennow K, Karikari TK, Vanmechelen E, Zetterberg H, Algeciras-Schimnich A, Knopman DS, Lowe V, Bu G, Vemuri P, Graff-Radford J, Jack Jr CR, Petersen RC. *JAMA Neurol*, 2021, 78: 1108–1117
- 80 Wang Y, Mandelkow E. *Nat Rev Neurosci*, 2016, 17: 22–35
- 81 He S, Wang F, Yung KKL, Zhang S, Qu S. *ACS Chem Neurosci*, 2021, 12: 1061–1071
- 82 Liu F, Zaidi T, Iqbal K, Grundke-Iqbal I, Merkle RK, Gong CX. *FEBS Lett*, 2002, 512: 101–106
- 83 Lefebvre T, Ferreira S, Dupont-Wallois L, Bussi re T, Dupire MJ, Delacourte A, Michalski JC, Caillet-Boudin ML. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2003, 1619: 167–176
- 84 Robertson LA, Moya KL, Breen KC. *J Alzheimer Dis*, 2004, 6: 489–495
- 85 Gatta E, Lefebvre T, Gaetani S, Dos Santos M, Marrocco J, Mir AM, Cassano T, Maccari S, Nicoletti F, Mairesse J. *Pharmacol Res*, 2016, 105: 186–197
- 86 Gong C, Liu F, Iqbal K. *Alzheimers & Dement*, 2016, 12: 1078–1089
- 87 Theillet FX, Binolfi A, Bekei B, Martorana A, Rose HM, Stuiiver M, Verzini S, Lorenz D, van Rossum M, Goldfarb D, Selenko P. *Nature*, 2016, 530: 45–50
- 88 Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VMY, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M. *Nature*, 1997, 388: 839–840
- 89 Fujiwara H, Hasegawa M, Dohmae N, Kawashima A, Masliah E, Goldberg MS, Shen J, Takio K, Iwatsubo T. *Nat Cell Biol*, 2002, 4: 160–164
- 90 Levine PM, Galesic A, Balana AT, Mahul-Mellier AL, Navarro MX, De Leon CA, Lashuel HA, Pratt MR. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116: 1511–1519
- 91 Tenreiro S, Eckermann K, Outeiro TF. *Front Mol Neurosci*, 2014, 7: 42–71
- 92 Brahmachari S, Ge P, Lee SH, Kim D, Karuppagounder SS, Kumar M, Mao X, Shin JH, Lee Y, Pletnikova O, Troncoso JC, Dawson VL, Dawson TM, Ko HS. *J Clin Invest*, 2016, 126: 2970–2988
- 93 Paleologou KE, Oueslati A, Shakked G, Rospigliosi CC, Kim HY, Lamberto GR, Fernandez CO, Schmid A, Chagini F, Gai WP, Chiappe D, Moniatte M, Schneider BL, Aebischer P, Eliezer D, Zweckstetter M, Masliah E, Lashuel HA. *J Neurosci*, 2010, 30: 3184–3198
- 94 Negro A, Brunati AM, Donella-Deana A, Massimino ML, Pinna LA. *FASEB J*, 2002, 16: 1–22
- 95 Olsen JV, Blagoev B, Gn d F, Macek B, Kumar C, Mortensen P, Mann M. *Cell*, 2006, 127: 635–648
- 96 Li Y, Zhao C, Luo F, Liu Z, Gu i X, Luo Z, Zhang X, Li D, Liu C, Li X. *Cell Res*, 2018, 28: 897–903
- 97 Zhang S, Liu YQ, Jia C, Lim YJ, Feng G, Xu E, Long H, Kimura Y, Tao Y, Zhao C, Wang C, Liu Z, Hu JJ, Ma MR, Liu Z, Jiang L, Li D, Wang R, Dawson VL, Dawson TM, Li YM, Mao X, Liu C. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118: e2011196118
- 98 Hu J, Xia W, Zeng S, Lim YJ, Tao Y, Sun Y, Zhao L, Wang H, Le W, Li D, Zhang S, Liu C, Li YM. *Nat Commun*, 2024, 15: 2677–2689
- 99 Yu L, Sun Z, Yu Y, Qu F, Yang Y, Li Y, Wang C. *J Phys Chem C*, 2016, 120: 6577–6582

Post-translational modifications regulate conformational polymorphism of protein aggregates associated with neurodegenerative diseases

Ruonan Wang[†], Zhongyi Jian[†], Lanlan Yu^{*}, Chenxuan Wang^{*}

State Key Laboratory of Common Mechanism Research for Major Disease, Department of Biophysics and Structural Biology, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100005, China

[†]Equally contributed to this work.

^{*}Corresponding authors (email: yull@ibms.pumc.edu.cn, wangcx@ibms.pumc.edu.cn)

Abstract: The conformational polymorphism of amyloid aggregates is of great significance in the pathogenesis of neurodegenerative diseases and the development of targeted drugs. Conformational polymorphism is the basic structural feature of amyloid aggregates and regulated by multiple factors. Among them, post-translational modification, as a key regulatory factor, endows aggregates with rich conformational diversity by regulating the aggregation dynamics and aggregate structure of amyloid. Here we review the new high-resolution structural analysis methods developed in recent years to analyze the conformational polymorphism of amyloid aggregates, and introduce the new progress in the study of the structural characteristics and regulatory mechanisms of the conformational polymorphism of amyloid aggregates. This review summarizes the heterogeneous effects of amyloid post-translational modifications and their key role in the pathological mechanisms of neurodegenerative diseases, illustrates the important regulatory mechanisms of post-translational modifications on the conformational polymorphism of amyloid aggregates, and analyzes the limitations and challenges of this research field at this stage.

Keywords: amyloid protein, aggregation, heterogeneous effect, conformational polymorphism, structural analysis

doi: [10.1360/SSC-2024-0194](https://doi.org/10.1360/SSC-2024-0194)