

# تحديد نموذج معترف به من قبل الأجسام المضادة المعتمدة على تشكل الأميلويد بيتا لمرض الزهايمر

الطالبة / إبتسام بنت محمد بن سالم باغلاب

المشرف / أ.د. خالد بن عمر أبوالنجا

## المستخلص

مرض الزهايمر مرض معروف جداً ذو نسبة متزايدة ودون علاج فعال حتى الآن. وفي المملكة العربية السعودية تزداد نسبة حدوثه حيث أصبح مرض الزهايمر في المرتبة السادسة كسبب يؤدي للوفاة لدى كبار السن. استهداف النظام المناعي لتصنيع الأجسام المضادة ضد المسبب الرئيسي للمرض وهو بروتين الأميلويد بيتا، والتي تتعرف على الأميلويد بيتا السامة وتزيلها بشكل فعال وتمنع تراكمها في الدماغ هو مجال بحثي مهم. هناك نتائج مشجعة من مجموعات بحثية حالية عن التحصين باستخدام الأجسام المضادة للأميلويد بيتا، وخاصة إذا كانت كمية الأميلويد بيتا المترسبة قليلة، حيث أن الجسم المضاد قد يكون له تأثير وقائي من المرض. ولكن هناك أجسام مضادة وحيدة النسيلة غير فعالة في الإنسان، إذا ليس كل الأجسام المضادة لها نفس الفاعلية. بما أن هذه الأجسام المضادة وحيدة النسيلة والمحددة الشكل لها عوامل علاجية واعدة، فمن المفيد الحصول على معلومات أكثر عن الذي تتعرف عليه ومدى ارتباط الإبتوب الخاص بها بالوقاية من المرض. وبالتالي يهدف البحث إلى اكتشاف جميع سلاسل الببتيدات والمتعرف عليها عن طريق مجموعة من الأجسام المضادة المعتمدة على الأميلويد محددة التشكل والمستخدمة بكثرة في أبحاث مرض الزهايمر. وقد قمنا باستخدام تقنية الاختيار المناعي لسلاسل بيتيدية عشوائية من مجموعة عرض فيروس بكتيري، ثم استخدمنا تقنية التحليل التسلسلي العميق وقمنا بتحليل نتائج الأنماط الخاصة بالآلاف المتسلسلات الناتجة. وتم التعرف على أقل متسلسل ضروري لارتباط الجسم المضاد وحيد النسيلة  $6E10$ ، حيث أكدت نتائج أكثر من 53% من المتسلسلات المناعية أنه R-x-D. وأن الغالبية العظمى من المتسلسلات تحتوي على H في موضع الx، مما يتوافق مع تسلسل الأميلويد بيتا في الموضع 5-7، وأنه من الممكن أن يحتل الY مكان الx في الأقلية من المتسلسلات. وبالنسبة للجسم المضاد وحيد النسيلة 4G8، فإن أقل متسلسل ضروري للارتباط هو F-x-A والموجود في 30% من المتسلسلات، ثم F-A، L-x(3)-A، L-x-F و F-F حيث يتواجد كل منهم ب 18% من المتسلسلات. يتواجد المتسلسل F-x-A في أميلويد الأميلين ولذلك تكمن 4G8 من التعرف على الأميلويد الليفي الخاص به. وبما أن الأجسام المضادة OC، A11، و APF عديدة النسيلة فقد كان من المتوقع الحصول على أكثر من نمط من المتسلسلات لكل منهم. بالنسبة ل OC، تم التعرف على أنماط تتعرف على بعض الاجسام المضادة وحيدة النسيلة الخاصة به مثل A-x-F-R و F-R. بالنسبة ل A11 و APF، بما أنه لم يتم التعرف على تسلسل الإبتوب لهما، فإن الأنماط لم تكن واضحة تماماً. ولكن كان هناك جزء من متسلسل موجود في المتسلسلات بكثرة، مثل FHL و VH بالنسبة ل A11 و S-S و A-N-x-L بالنسبة ل APF. قد تكون تقنية الاختيار المناعي للمتسلسلات ثم استخدام التحليل التسلسلي العميق تقنية متاحة وفعالة لتحديد الأجزاء المهمة لارتباط الأجسام المضادة وتأكيد خصوصية الجسم المضاد. تؤكد النتائج أن الاجسام المضادة وحيدة النسيلة تفضل تسلسل معين من الأحماض الأمينية "بصمة" والتي توضح شكل الإبتوب الخاص به، ومن الممكن استخدامها في التعرف على الجسم المضاد في أي مزيج معقد مثل مصل الدم، ويمكن استخدامها في تشخيص المرض. ممكن استخدام هذه البصمة للتعرف على الأجسام المضادة المرتبطة بمرض الزهايمر، وتشخيصه أو تشخيص أنواعه ودوره الوقائي من المرض.

# Identification of epitome recognized by amyloid beta conformation dependent antibodies for Alzheimer's disease

Student / Ibtisam Mohammed Salem Baghallab

Supervisor / Prof. Khalid Omar Abulnaja

## ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is a well-known disease with increasing incidence and no effective cure. Even in Saudi Arabia, AD incidence is increasing and becoming the 6<sup>th</sup> highest cause of morbidity among elderly. Targeting the immune system to develop autoantibodies against amyloid beta (A $\beta$ ), the main causes of AD, that recognize only the toxic A $\beta$  structures and help in their clearance and prevent their deposition in the brain is an important field of AD research. Current research groups are showing encouraging results about passive immunization using anti-A $\beta$  monoclonal antibodies (mAbs), especially if A $\beta$  deposition is still low so the antibody might have a prophylactic effect from AD. However, other mAbs were not as efficient in humans, so not all antibodies are equally effective. Since, these conformation dependent mAbs are promising therapeutic agents, it's helpful to obtain greater knowledge about what they recognize and which of their epitopes are correlated in avoiding AD. Thus, this research aims include the discovery of all the peptide sequences recognized by a set of amyloid conformation dependent antisera and antibodies that include the mostly used antibodies in AD research. To thoroughly characterize the binding specificity of these antibodies, we used immunoselection of random peptide sequences from phage display library followed by deep sequencing and analyzed the resulting patterns from thousands of immunoselected sequences. Findings were, for the mAb 6E10 the minimum sequence required for binding is R-x-D with over half (53%) of the immunoselected sequences conforming to this pattern. The vast majority of these sequences contained an H at position x (R-H-D), corresponding to residues 5-7 of the A $\beta$  target sequences, but Y is also permitted at this position in a minority of sequences. For 4G8, we found that the most frequent pattern is F-x-A contained in approximately 30% of the sequences, followed by F-A, L-x(3)-A, L-x-F and F-F each accounting for approximately 18% of the sequences. The F-x-A motif also occurs in islet amyloid poly peptide which may explain why 4G8 also recognizes amyloid fibrils of this peptide. Since, the conformation dependent anti-A $\beta$  sera OC, A11 and  $\alpha$ -APF are polyclonal, it was expected to have different major patterns for each one. For OC, findings were able to identify patterns that correspond to some of its mAbs such as A-x-F-R and F-R. For, A11 and  $\alpha$ -APF patterns obtained were unclear since their epitope is not identified yet, but they had preference for certain subsequences such as FHL and VH for A11 and S-S and A-N-x-L for  $\alpha$ -APF. Immunoselection and deep sequencing may also be a facile and efficient means of determining residues critical for antibody binding and validating the antibodies specificity. Findings indicate that mAbs display a preference for a unique set of amino acid sequences "fingerprint", which provides insight about its epitope structure and it can be used to identify the antibody in complex mixtures like serum. These fingerprints can be used to identify antibodies that are correlated with AD, antibodies predictive for AD or subtypes of AD and antibodies that are protective for AD.