

Turbulent flödeskromatografi i explorativ proteomik, en ny metod för att analysera komplexa humana prover

Bakgrund: Över 35 miljoner människor runt om i världen (ca 90.000 i Sverige) lever idag med Alzheimers sjukdom, en av flera neurodegenerativa tillstånd som är starkt kopplat till ålder och som det ännu inte finns någon behandling för. Alltfler bevis pekar nu mot att den biokemiska förändring som leder till Alzheimers inleds flera decennier innan symptomen blir märkbara. Frågan är därför om det är möjligt att också ställa en diagnos tidigare och möjligen förebygga utvecklingen?

Utifrån koncentrationen av tre substanser i ryggmärgsvätska: peptiden β -Amyloid₁₋₄₂, den totala halten av proteinet 'Tau' och den fosforylerade varianten av samma protein ("hyperfosforylerat Tau"), går det att med relativt stor säkerhet avgöra om en patient lider av, eller löper risk att utveckla, Alzheimers. De tre nämnda molekylerna är resultat av metabolisk nedbrytning av proteiner i hjärnan och refereras oftast till som "biomarkörer" då de kan användas som riktmärken vid diagnostisering. Kortfattat är en biomarkör en, eller en kombination av flera molekyler som hos den övervägande majoriteten av befolkningen uppvisar tydliga koncentrationsskillnader mellan friska individer och personer som lider av en specifik sjukdom.

Vår hypotes är att det med hjälp av allt känsligare analysutrustning och nya metoder för att hantera prover idag går att hitta fler biomarkörer och/eller snabbare, enklare, mer akurata och säkrare vägar för att ställa diagnos än vad som tidigare varit möjligt.

Målsättning: Det primära målet med projektet är att utveckla en metod som snabbt och effektivt kan identifiera sjukdomsrelaterade proteiner i komplexa lösningar så som ryggmärgsvätska och möjligen också blod. Nästa steg blir att applicera den nya tekniken på en större mängd prover från dels friska individer och dels från konfirmerade Alzheimerssjuka. När grupperna jämförs kommer förhoppningsvis en eller flera potentiella biomarkörer att kunna identifieras varefter deras användbarhet för ändamålet avgörs med hjälp av tester som punktmarkerar de specifika proteinerna.

Metodbeskrivning: Det absolut vanligaste tillvägagångssättet är att dela upp proteinerna i ett prov med avseende på deras kemiska egenskaper som till exempel hydrofobicitet. I den metod vi här utvecklar använder vi oss av en teknik kallad Turbulent Flödeskromatografi (Turbulent Flow Chromatography, TFC) som gör det möjligt att dela upp proteinerna *även* med avseende på massa (storlek) vilket tillåter en än tydligare bild av innehållet i provet. Den andra fördelen är att utrustningen som används är robust nog för att nyttja näst intill obehandlat material och att det således är möjligt att i princip koppla patienten direkt till analysutrustningen. Detta innebär, jämfört med idag att analystiden avsevärt förkortas från en eller ett par dagar till några timmar, dessutom minskas risken för införandet av kontaminanter.

Resultat: Preliminära data indikerar att turbulent flödeskromatografi som prepareringsmetod för human ryggmärgsvätska är jämförbar, i mängd detekterade proteiner, med den nuvarande metoden. Intressant är att de båda tillvägagångssätten har ett detektionsöverlapp motsvarande cirka en tredjedel av det totalt detekterade materialet. I den tredjedel av proteinerna som upptäckts enbart i TFC-behandlade prover kan därför hittas tidigare ej karakteriserade proteiner.

Resultaten visar även att TFC gör det möjligt att utföra analysen på en bråkdel av den tid som krävs för jämförbara metoder. Mängden steg i protokollet som kräver inblandning av personal/ forskare minskar också och därmed även kontaminationsrisken.

Konklusion: Det krävs förbättringar på ett antal områden samt ett större statistiskt underlag för att kunna yttra sig med säkerhet om TFC-metodens funktionalitet men de hittills inhämtade resultaten är positiva. Kommande studier kommer att fokusera på att optimera metoden, studera reproducerbarhet på ett större patientmaterial samt undersöka möjligheten att även applicera TFC på blod.