



Die atomare dreidimensionale Struktur von Amyloid- β -Fibrillen mit der Osaka-Mutation**

Anne K. Schütz, Toni Vagt, Matthias Huber, Oxana Y. Ovchinnikova, Riccardo Cadalbert, Joseph Wall, Peter Güntert, Anja Böckmann,* Rudi Glockshuber* und Beat H. Meier*

Abstract: Trotz der zentralen Bedeutung für das Verständnis der molekularen Grundlage der Alzheimer-Krankheit (AK), gibt es bisher wenig Wissen über die hochaufgelösten Strukturen von Fibrillen des Amyloid- β (A β)-Peptids. Wir präsentieren hier eine atomar aufgelöste Struktur von Fibrillen des A β 1-40-Peptids mit der Osaka-Mutation (E22 Δ), die mit früh auftretender AK in Zusammenhang steht. Die Struktur, die sich grundlegend von allen bisher vorgestellten A β -Modellen unterscheidet, basiert auf einer großen Anzahl eindeutiger intra- und intermolekularer Abstandsbeschränkungen („distance restraints“).

Die Alzheimer-Krankheit ist eine progressive neurodegenerative Erkrankung, die von fibrillären Ablagerungen bestehend aus Amyloid- β -Peptid in extrazellulären Plaques im Gehirn begleitet wird.^[1] Die Amyloid-Kaskaden-Hypothese^[2] geht davon aus, dass die Bildung von Oligomeren und Fasern das Schlüsselereignis in der Entwicklung von AD ist. Daher ist die hochaufgelöste Struktur von A β -Aggregaten entscheidend, um die molekulare Grundlage dieser Krankheit zu entschlüsseln. Die NMR-Spektroskopie im Festkörper hat ihr Potential, Proteinfibrillen zu untersuchen, bereits mehrfach bewiesen.^[3-5] Mehrere Strukturmodelle für A β -Fibrillen auf der Grundlage von Festkörper-NMR-Daten wurden bereits veröffentlicht,^[6-15] einschließlich eines neuen detaillierten atomaren Modells von Fibrillen, die mit dem Homogenat eines befallenen Gehirns angeimpft wurden und eine β -Haarnadel in einer Trimer-Anordnung darstellen.^[14] Diese

Modelle haben als Architektur das Kreuz- β -Faltblatt gemeinsam, in welchem die β -Stränge senkrecht zur Fibrillenachse verlaufen, meist mit parallelen β -Faltblättern, in denen gleiche Aminosäurereste aufeinander zu liegen kommen (wobei die Iowa Mutante D23N^[16] eine wichtige Ausnahme darstellt). Die verschiedenen Modelle untermauern die Existenz von Polymorphie, nämlich die Fähigkeit von A β -Fibrillen, verschiedene Architekturen anzunehmen, welche unterschiedlichen Phänotypen der AK entsprechen könnten.^[14] Die Selbstnachbildung unterschiedlicher Quartärstrukturen der Fibrille wurde auch für die Parkinson-Erkrankung postuliert^[17,18] und ist das strukturelle Prinzip, das den Prionen-Stämmen^[19] zugrundeliegt.

Hier kombinieren wir Festkörper-NMR-Spektroskopie mit Elektronenmikroskopie, um die atomar aufgelöste Struktur von Amyloidfibrillen aus A β 1-40 mit der Osaka-Deletionsmutation E22 Δ zu erhalten, welche mit früh auftretender AK mit familiärer Häufung in Zusammenhang steht.^[20] A β 1-40 E22 Δ hat sich in primären Neuronenkulturen aus Ratten als neurotoxischer erwiesen als Wildtyp A β 1-40. Außerdem bilden dessen Aggregate bevorzugt Bündel in vitro, welche, im Fall der hier untersuchten Form, eine ungewöhnlich hohe Bildungskapazität für Thioflavin T haben.^[21,22] Indem wir Daten über das Masse-Länge-Verhältnis der Fibrille (erhalten aus Messungen mit dem Rastertransmissionselektronenmikroskop; STEM) mit eindeutigen NMR-Abstandsbeschränkungen kombinieren (d.h. die beiden Frequenzen des NMR-Kreuzpeaks sind jeweils einem einzelnen

[*] Dr. A. K. Schütz,^[14] Dr. M. Huber, R. Cadalbert, Prof. Dr. B. H. Meier
Laboratorium für Physikalische Chemie, ETH Zürich
Vladimir-Prelog-Weg 2, 8093 Zürich (Schweiz)
E-Mail: beme@ethz.ch

Dr. T. Vagt,^[14] Dr. O. Y. Ovchinnikova, Prof. Dr. R. Glockshuber
Institut für Molekulare Biologie und Biophysik, ETH Zürich
Otto-Stern-Weg 5, 8093 Zürich (Schweiz)
E-Mail: rudi@mol.biol.ethz.ch

Dr. J. Wall
Brookhaven National Laboratory
50 Bell Avenue, Building 463, Upton, NY 11973-5000 (USA)

Prof. Dr. P. Güntert
Institut für Biophysikalische Chemie, Center for Biomolecular Magnetic Resonance, and Frankfurt Institute for Advanced Studies, Goethe-Universität, Frankfurt am Main (Deutschland)

Dr. A. Böckmann
Institut de Biologie et Chimie des Protéines, Bases Moléculaires et Structurales des Systèmes Infectieux, Labex Ecofect, UMR 5086 CNRS, Université de Lyon
7 passage du Vercors, 69367 Lyon (Frankreich)
E-Mail: a.boeckmann@ibcp.fr

[†] Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu der Arbeit beigetragen.

[**] Wir danken A. Däpp und A. Hunkeler für technische Hilfe, M. Ernst für Rat und Diskussionen, Beth Lin für Hilfe mit den STEM-Messungen und dem EMEZ der ETH für Unterstützung mit dem TEM. Diese Arbeit wurde unterstützt durch den Schweizerischen Nationalfonds SNF (Fonds 200020_134681, 200020_146757), das CNRS (ANR-12-BS08-0013-01, ANR-11-BSV8-021-01), und das „NCCR Neural Plasticity and Repair“-Programm des SNF. P.G. wird unterstützt durch das Lichtenberg-Programm der VW-Stiftung.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201408598> zu finden.

© 2014 Die Autoren. Veröffentlicht von Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Dieser Open Access Beitrag steht unter den Bedingungen der Creative Commons Attribution Non-Commercial NoDerivs License, die eine Nutzung und Verbreitung in allen Medien gestattet, sofern der ursprüngliche Beitrag ordnungsgemäß zitiert und nicht für kommerzielle Zwecke genutzt wird und keine Änderungen und Anpassungen vorgenommen werden.

Atom zuzuordnen), davon 26 intra- und 22 intermolekular, erhalten wir die globale Faltung des Peptids. In einer zweiten Strukturrechnung auf der Grundlage dieser Daten, ergänzt um 631 automatisch zugeordnete NMR-Abstandsbeschränkungen per Monomer, die von mittlerer und langer Reichweite bzw. von intermolekularer Natur sind und welche durch 2356 Kreuzsignale in fünf unterschiedlichen NMR-Spektren unterstützt werden, erhalten wir eine atomare Struktur von A β 1-40 E22 Δ Fibrillen.

Zuerst zeigen wir, dass die Fibrille aus zwei symmetrieäquivalenten rigiden Molekülen je Lage des β -Faltblatts aufgebaut ist. Isolierte Fibrillensegmente können im frühen Stadium der In-vitro-Fibrillisierung erhalten werden, wie aus Abbildung 1 a,b ersichtlich ist. Die experimentelle Verteilung des Masse-Länge-Verhältnisses (MPL) in Abbildung 1 c lässt erkennen, dass die elementare Fibrille aus zwei Monomeren von 4.2 kDa in jeder Lage des β -Faltblatts (≈ 4.85 Å) besteht, was zwei symmetrieäquivalenten Molekülen je Lage ent-

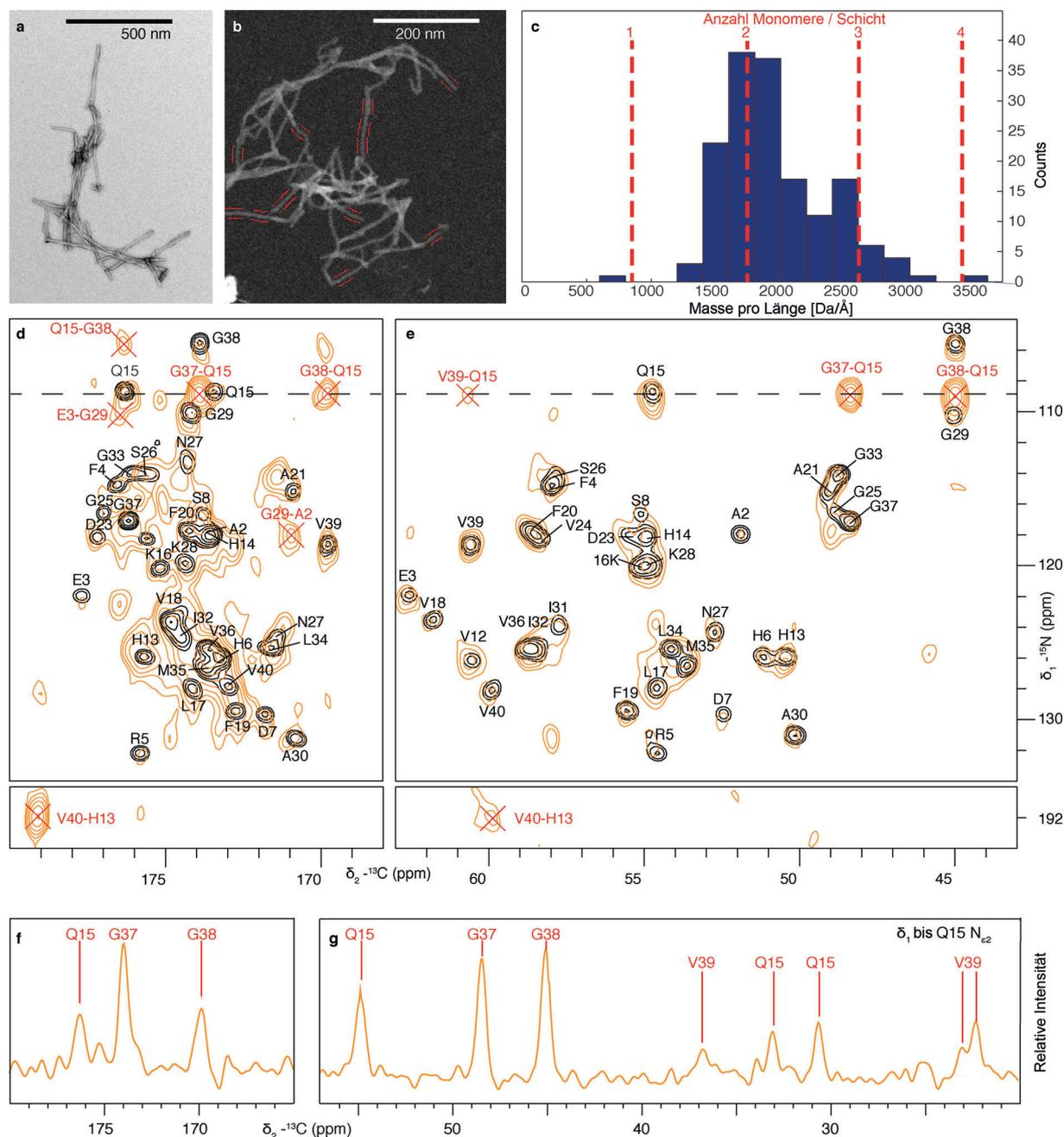


Abbildung 1. NMR- und STEM-Daten etablieren die grundlegende Architektur des Amyloids. a) Mikrograph mit Negativkontrastierung von A β 1-40 E22 Δ -Fibrillen. b) STEM-Mikrograph ohne Kontrastierung von gefriergetrockneten Fibrillen. Für MPL-Messungen verwendete Regionen sind rot markiert. c) MPL-Messung. d,e) Ein Vergleich von NCO- (d) und NCA-NMR-Spektren (e) von uniform [^{15}N , ^{13}C]-markierten Fibrillen (schwarze Konturlinie) mit gemischt [^{15}N , ^{13}C]-markierten Fibrillen (orange Konturlinie) erbringt den Nachweis für eine parallele β -Faltblatt-Architektur, in welcher gleiche Aminosäurereste aufeinander zu liegen kommen. f,g) Spuren durch das Spektrum auf der Gln15-N ϵ 2-Resonanz.

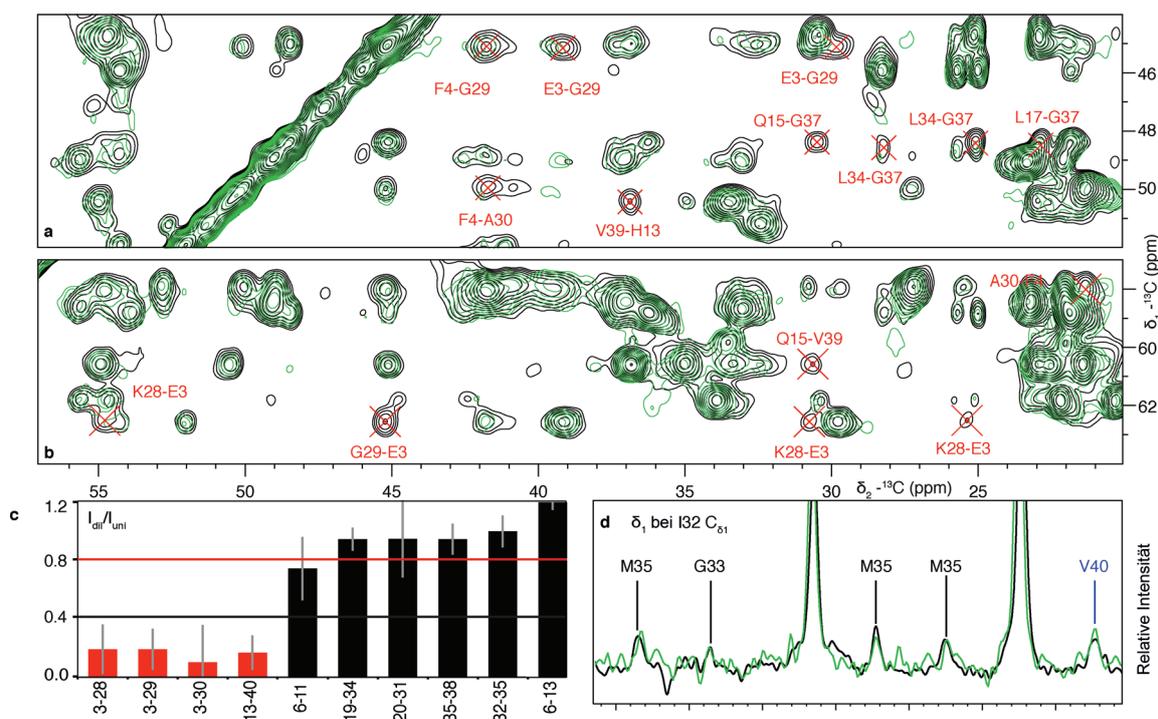


Abbildung 2. Ausschnitte aus NMR-Spektren, welche intra- von intermolekularen Kontakten unterscheiden. a,b) Superposition von PAR-Spektren, die an einer uniform [^{13}C]-markierten Probe (schwarze Konturlinien) und an einer Probe aus 20% uniform [^{15}N , ^{13}C]-markiertem Protein und 80% nicht markiertem Material (grüne Konturlinien) aufgenommen wurden. Details finden sich in Abbildung S5. c) Intensitätsverhältnisse von Kreuzsignalen in verdünnt und uniform markierten Proben. Inter- und intramolekulare Korrelationen, die auf 20% bzw. nicht abgeschwächt werden sollten, sind als rote und schwarze Balken dargestellt. Die gesamte Statistik befindet sich in Abbildung S5. d) Spur durch die C δ 1-Resonanz von Ile32 aus PAR-Spektren von uniform (schwarz) und verdünnt markierten (grün) Proben. Alle Kreuzpeaks dieser Resonanz sind intramolekular.

spricht. Die Sequenzzuordnung der NMR-Resonanzen wird an anderer Stelle^[23] beschrieben. Die hier verwendeten Spektren wurden an fast reinen Proben eines einzelnen Polymorphs aufgenommen. NCA- und NCO-Korrelationspektren (Abbildung 1 d,e) sowie das DARR-Korrelationspektrum (Abbildung S1 in den Hintergrundinformationen) enthalten nur einen Satz Resonanzen, was beweist, dass alle Monomere symmetrieäquivalent sind. Alle 39 Aminosäuren können im Spektrum nachgewiesen werden, was auf die Abwesenheit sehr dynamischer Segmente hindeutet.

Die Strukturrechnung erfolgt nach etablierten Strategien der NMR-Spektroskopie. Abstandsbeschränkungen werden aus zweidimensionalen CHHC-, PAR-, PAIN-, DARR- und PDS-D-Spektren erhalten (Abbildungen 1 d,e, 2 a,b sowie S2 und S3).^[24–27] Eine relative geringe Anzahl spektral eindeutiger Kreuzsignale kann weitreichende Abstandsbeschränkungen liefern, welche die Struktur bereits recht gut definieren,^[3] während unter Verwendung der vollständigen Information aus allen eindeutigen und nicht eindeutigen Kreuzsignalen eine präzisere Struktur erhalten werden kann.^[4] In Amyloiden sind strukturell bedeutsame intermolekulare Abstände zahlreich und können ähnlich lang sein wie intramolekulare Abstände.^[4] Es ist daher also notwendig, die inter- oder intramolekulare Natur der NMR-Kreuzsignale mittels Proben mit spezifischer Isotopenmarkierung zu etablieren.

Zunächst klärten wir die Frage, wie die β -Stränge der Fibrille zu β -Faltblättern zusammenlagern; die Beobachtung

sehr ähnlicher N- α - und N-C'-Kreuzsignale (Abbildung 1 d,e) in NCA/NCO-Spektren, die an einer uniform markierten Probe aufgenommen wurden (sodass Korrelationen nur innerhalb einer Aminosäure auftreten), und PAIN-Spektren, die von einer gemischt (1:1) [^{15}N , ^{13}C]-markierten Probe kommen (sodass Korrelationen ausschließlich von intermolekularen Kontakten zwischen benachbarten Lagen des β -Faltblatts herrühren können), offenbarten die parallele Anordnung der β -Faltblätter derart, dass gleiche Aminosäurereste aufeinander zu liegen kommen.

Dann suchten wir weitere Peaks, die eindeutig intermolekular sind. PAIN-Spektren der gemischten Probe zeigen nur intermolekulare ^{15}N - ^{13}C -Korrelationen, und neben Signalen, welche benachbarte Lagen des β -Faltblatts verbinden, fanden wir dort starke Signale, welche nicht durch Kontakte entlang des Faltblatts erklärt werden können (z.B. rote Kreuze in Abbildung 1 d,e). Fünf dieser zusätzlichen Peaks lieferten spektral eindeutige intermolekulare Abstandsbeschränkungen (Tabelle S1).

Weitere Informationen über die intra- und intermolekulare Anordnung von Monomeren in der Fibrille konnten durch Vergleich der Kreuzpeak-Intensitäten zwischen uniform und verdünnt markierten Proben (isotopenmarkierte Monomere verdünnt in nicht markierten) in CHHC-, PAR- und DARR-Spektren (Abbildungen 2 a,b,d und Abbildung S4) erhalten werden. Intermolekulare Kreuzsignale werden in etwa im Verhältnis der Verdünnung abgeschwächt (hier 1:4), während intramolekulare Peaks konstant bleiben.

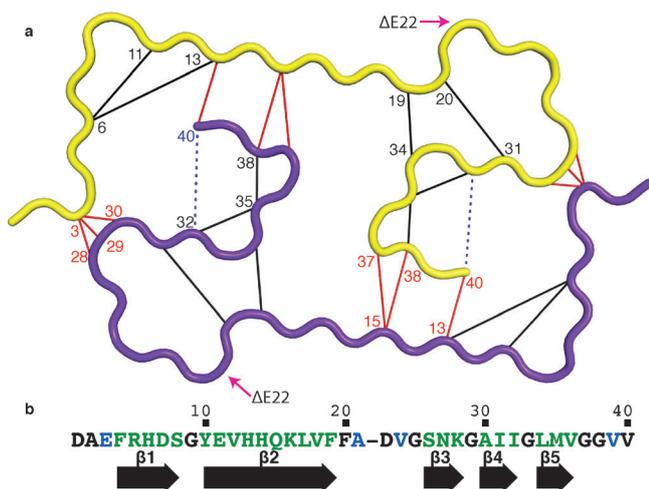


Abbildung 3. a) Struktur des Polymerrückgrats von Aβ1-40 E22Δ berechnet auf der Grundlage von eindeutigen Abstandsbeschränkungen (durchgezogene rote und schwarze Linien). Blaue gestrichelte Kontakte werden im Text diskutiert, aber wurden in der Strukturrechnung nicht verwendet. b) Wasserstoffbrücken zwischen β-Faltblättern, welche in die Strukturrechnung eingehen (grüne Buchstaben). Blau: weitere Aminosäurereste mit Vorhersagen von TALOS+, welche in der Strukturrechnung verwendet wurden.

Der Vergleich zwischen verdünnten und unverdünnten Proben wird in Abbildung S4 ausgeführt, und die resultierenden Abschwächungsverhältnisse sind in Abbildung 2c und Abbildung S5 dargestellt. Diese Analyse erbrachte Abstandsbeschränkungen, die sowohl spektral eindeutig sind als auch bezüglich ihrer Natur inter- oder intramolekular. Insgesamt wurden aus den Spektren 48 Abstandsbeschränkungen

erhalten und in 22 intermolekulare und 26 intramolekulare klassifiziert (Tabelle S1 und Abbildung S6).

Eine erste „manuelle“ Strukturrechnung mit CYANA^[28] verwendete nur die 48 manuell identifizierten eindeutigen Abstandsbeschränkungen (Tabelle S1) sowie Wasserstoffbrücken, welche die β-Faltblätter definieren (Abbildung 3b), und 56 Diederwinkel-Limits, die mit dem Programm TALOS+^[29] erzeugt wurden. Die resultierende Struktur des Polymerrückgrats ist in Abbildung 3a dargestellt, Details der Strukturrechnung finden sich in den Hintergrundinformationen. Intermolekulare Abstandsbeschränkungen (rot in Abbildung 3) können laterale Kontakte zwischen zwei Molekülen darstellen, falls alle β-Faltblätter eine planare Anordnung mit β-Strängen bilden, die senkrecht zur Fibrillenachse verlaufen. Sie können aber auch „gestaffelte Kontakte“ darstellen, falls ein Monomer sich über mehr als seine Ebene des β-Faltblatts erstreckt.^[8,30] Manuelle Strukturrechnungen führten ausschließlich zu Lösungen, in denen alle intermolekularen Kontakte von lateraler Natur sind. Das Erzwingen einer gestaffelten Anordnung führte zu höheren Zielfunktionen in der Strukturrechnung (Abbildung S8). Die hydrophoben Aminosäuren am Carboxy-Terminus (Ile32-Val40) bilden kein gerades β-Faltblatt, sondern falten auf sich selbst zurück, sodass sie die eindeutig intramolekularen Kontakte Ile32-Met35 (Abbildung 2d, und Abbildung S5C) sowie Met35-Gly38 (Tabelle S1 und Abbildung S4E) erfüllen. Weitere Unterstützung für dieses Merkmal, das spezifisch für die hier gefundene Faltung des Aβ-Peptids ist, liefern die folgenden Beobachtungen, die für die Strukturrechnung nicht verwendet wurden, sodass sie eine unabhängige Bestätigung darstellen: 1) Die Faltung sagt einen intramolekularen Kontakt Ile32-Val40 voraus (gestrichelte Linie in Abbildung 3a), dessen Existenz bestätigt wird durch das PAR-Spektrum in

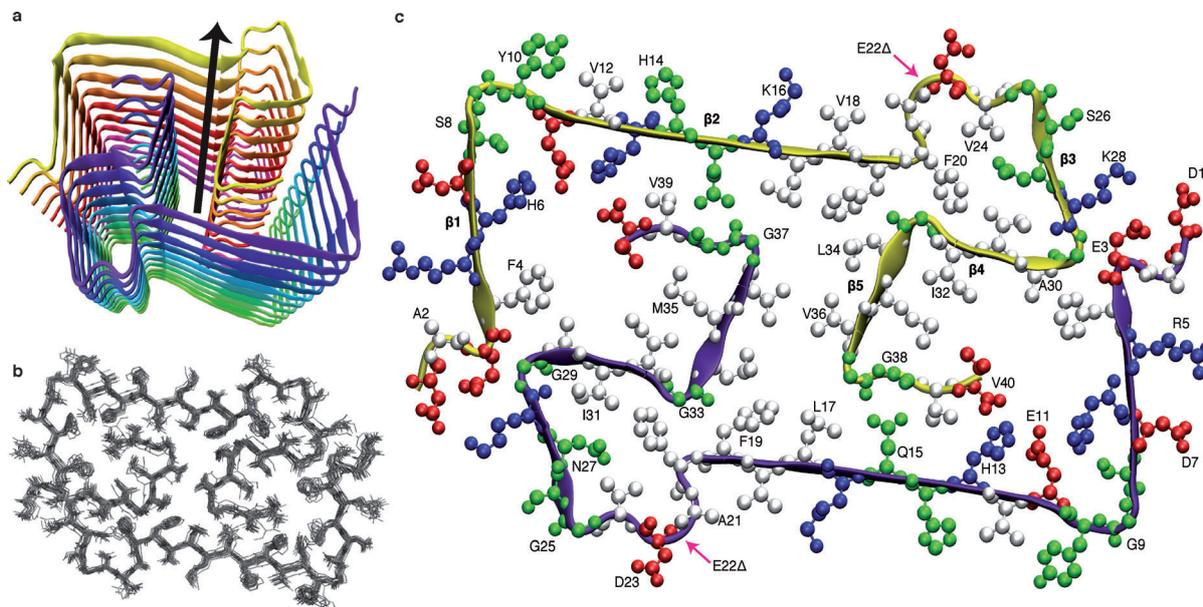


Abbildung 4. Darstellung der 3D-Struktur von Aβ1-40 E22Δ, die auf der Grundlage von NMR-basierten Distanz- und Torsionswinkel-Limits berechnet wurde. a) Schematische Ansicht des Konformers mit der tiefsten Energie eines Aβ1-40 E22Δ-Bidekamers („2x10-Monomer“). Die Symmetrieachse fällt mit der Längsachse der Fibrille zusammen. b) NMR-Bündel der mittleren Lage des β-Faltblatts. c) Querschnitt durch die Fibrille. Hydrophobe Aminosäuren sind weiß, negative geladene rot, positive geladene blau und polare (einschließlich Gly) grün dargestellt.

Abbildung 2d: Das als „V40“ gekennzeichnete Signal, das zugeordnet ist zu Ile32δ1–Val40γ1/2, ist eindeutig sichtbar und wird durch Verdünnung *nicht* abgeschwächt. Die alternativen Zuordnungsmöglichkeiten für dieses Kreuzsignal führten zur Verletzung des Distanzlimits. 2) Die Faltung erklärt alle 21 spektral eindeutigen Peaks, die im PDS-D-Spektrum von [2-¹³C]-Glucose identifiziert wurden (aufgeführt in Tabelle S1).

Die automatische Strukturrechnung wurde unter Verwendung der Information aus der manuellen Rechnung und zusätzlichen Listen mit automatisch identifizierten Kreuzsignalen aus den CHHC-, PAR-, PDS-D- und zwei PAIN-Spektren durchgeführt, die iterativ in CYANA zugeordnet wurden (Tabelle S2). Dieses Vorgehen ergab die Struktur, die in Abbildung 4 gezeigt ist. Die Quartärstruktur der Fibrille wird durch zwei ineinander verschränkten Protofilamente definiert und ähnelt einer Zimtschnecke. Abbildung 4b stellt das NMR-Bündel dar, das die 20 Strukturen mit der niedrigsten Energie repräsentiert. Die Struktur wurde in PDB-Datenbank hinterlegt (ID 2mvx); die chemischen Verschiebungen wurden in BMRB hinterlegt (ID 25289). Der Querschnitt der Fibrille kann durch ein Rechteck angenähert werden, das durch intermolekulare Salzbrücken zwischen den Seitenketten von Glu3 und Lys28 abgeschlossen wird. Diese Salzbrücke scheint in Wildtyp Aβ-Fibrillenmodellen nicht vorzukommen, in denen Lys28 vielmehr oft in Kontakt mit Asp23^[11,30] gefunden wurde. Abbildung 4c zeigt die Platzierung der Seitenketten in der Fibrille und lässt erkennen, dass das Innere der Fibrille mit fast ausschließlich hydrophoben Aminosäuren gefüllt ist, was nahelegt, dass hydrophobe Wechselwirkungen maßgeblich zur Stabilität der Fibrille beitragen. Bemerkenswerterweise findet man vier geladene Aminosäuren im Inneren der Fibrille, einschließlich der Carboxy-Gruppe von V40 am C-Terminus. Die vier Aminosäuren bilden ein Netzwerk von Salzbrücken (Abbildung S7). Dieses Netzwerk stabilisiert sowohl die Kurve im Polymerückgrat zwischen Gly9 und His13 als auch die Quartärstruktur. Beweise gegen eine Dreifachsymmetrie der Fibrille werden in Abbildung S9 diskutiert.

Zusammenfassend präsentieren wir die atomar aufgelöste Struktur von Amyloid-β-Fibrillen, wie sie von der Osaka-Deletionsmutante gebildet werden, die mit früh auftretender AK in Zusammenhang steht. Die Struktur ist komplex geordnet und ihre Stabilität kann anhand der Aufbauprinzipien anderer Proteinklassen nachvollzogen werden. Die Deletionsmutation, die in der Nähe weiterer familiär gehäuft auftretender Mutationen liegt (arktisch, E22G; niederländisch, E22Q; flämisch, A21G; italienisch, E22K; Iowa, D23N), befindet sich in einer β-Schleife in der Struktur. Die globale Faltung ist daher prinzipiell auch dem Wildtyp-Aβ1-40-Peptid und diesen Mutanten zugänglich. Tatsächlich wurde vor kurzem gezeigt, dass Aβ1-40 E22Δ-Fibrillen ihre Struktur, ähnlich wie Prionen, auf Wildtyp-Aβ1-40^[31] übertragen können. Unsere Struktur liefert daher die Basis für weitere Arbeiten zum Verständnis der Bildung und Fortpflanzung von Amyloid-β-Fibrillen sowie zur Bindung von Wirkstoffen^[32] auf molekularer Ebene.

Eingegangen am 27. August 2014
Online veröffentlicht am 13. November 2014

Stichwörter: Alzheimer-Krankheit · Amyloide · Festkörper-NMR-Spektroskopie · Strukturaufklärung

- [1] J. Hardy, D. Selkoe, *Science* **2002**, *297*, 353–356.
- [2] J. Hardy, G. Higgins, *Science* **1992**, *256*, 184–185.
- [3] C. Wasmer, A. Lange, H. van Melckebeke, A. B. Siemer, R. Riek, B. H. Meier, *Science* **2008**, *319*, 1523–1526.
- [4] H. van Melckebeke, C. Wasmer, A. Lange, E. Ab, A. Loquet, A. Böckmann, B. H. Meier, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 13765–13775.
- [5] A. W. P. Fitzpatrick, G. T. Debelouchina, M. J. Bayro, D. K. Clare, M. A. Caporini, V. S. Bajaj, C. P. Jaroniec, L. Wang, V. Ladizhansky, S. A. Müller, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, 5468–5473.
- [6] R. Tycko, R. B. Wickner, *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 1487–1496.
- [7] A. Petkova, Y. Ishii, J. Balbach, O. Antzutkin, R. Leapman, F. Delaglio, R. Tycko, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 16742–16747.
- [8] T. Lührs, C. Ritter, M. Adrian, D. Riek-Loher, B. Bohrmann, H. Dobeli, D. Schubert, R. Riek, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 17342–17347.
- [9] I. Bertini, L. Gonnelli, C. Luchinat, J. Mao, A. Nesi, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 16013–16022.
- [10] A. K. Paravastu, R. D. Leapman, W.-M. Yau, R. Tycko, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 18349–18354.
- [11] M. Ahmed, O. Y. Ovchinnikova, A. Laganowsky, V. H. FINDER, J. Davis, C. Liu, D. Aucoin, I. Vodopivec, M. R. Sawaya, T. Sato, et al., *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2010**, *17*, 561–567.
- [12] J.-M. Lopez del Amo, M. Schmidt, U. Fink, M. Dasari, M. Fändrich, B. Reif, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 6136–6139; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 6240–6243.
- [13] A. Petkova, W. Yau, R. Tycko, *Biochemistry* **2006**, *45*, 498–512.
- [14] J.-X. Lu, W. Qiang, W.-M. Yau, C. D. Schwieters, S. C. Meredith, R. Tycko, *Cell* **2013**, *154*, 1257–1268.
- [15] Z. Niu, W. Zhao, Z. Zhang, F. Xiao, X. Tang, J. Yang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 9294–9297; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 9448–9451.
- [16] W. Qiang, W.-M. Yau, Y. Luo, M. P. Mattson, R. Tycko, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 4443–4448.
- [17] J. L. Guo, D. J. Covell, J. P. Daniels, M. Iba, A. Stieber, B. Zhang, D. M. Riddle, L. K. Kwong, Y. Xu, J. Q. Trojanowski, et al., *Cell* **2013**, *154*, 103–117.
- [18] L. Bousset, L. Pieri, G. Ruiz-Arlandis, J. Gath, P. H. Jensen, B. Habenstein, K. Madiona, V. Olieric, A. Böckmann, B. H. Meier, et al., *Nat. Commun.* **2013**, *4*, 2575.
- [19] B. H. Toyama, M. J. S. Kelly, J. D. Gross, J. S. Weissman, *Nature* **2007**, *449*, 233–237.
- [20] T. Tomiyama, T. Nagata, H. Shimada, R. Teraoka, A. Fukushima, H. Kanemitsu, H. Takuma, R. Kuwano, M. Imagawa, S. Ataka, et al., *Ann. Neurol.* **2008**, *63*, 377–387.
- [21] O. Y. Ovchinnikova, V. H. FINDER, I. Vodopivec, R. M. Nitsch, R. Glockshuber, *J. Mol. Biol.* **2011**, *408*, 780–791.
- [22] M. Inayathullah, D. B. Teplow, *Amyloid* **2011**, *18*, 98–107.
- [23] M. Huber, O. Y. Ovchinnikova, A. K. Schütz, R. Glockshuber, B. H. Meier, A. Böckmann, *Biomol. NMR Assignments* **2014**, DOI: 10.1007/s12104-013-9535-x.
- [24] A. Lange, S. Luca, M. Baldus, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9704–9705.
- [25] G. de Paepe, J. R. Lewandowski, A. Loquet, A. Böckmann, R. G. Griffin, *J. Chem. Phys.* **2008**, *129*, 245101.
- [26] G. de Paepe, J. R. Lewandowski, A. Loquet, M. Eddy, S. Megy, A. Böckmann, R. G. Griffin, *J. Chem. Phys.* **2011**, *134*, 095101.

- [27] K. Takegoshi, S. Nakamura, T. Terao, *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 2325–2341.
- [28] P. Güntert, C. Mumenthaler, K. Wüthrich, *J. Mol. Biol.* **1997**, *273*, 283–298.
- [29] Y. Shen, F. Delaglio, G. Cornilescu, A. Bax, *J. Biomol. NMR* **2009**, *44*, 213–223.
- [30] R. Tycko, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2011**, *62*, 279–299.
- [31] T. Spirig, O. Y. Ovchinnikova, T. Vagt, R. Glockshuber, *Neurodegenerative Diseases* **2014** (im Druck).
- [32] A. K. Schütz, A. Soragni, S. Hornemann, A. Aguzzi, M. Ernst, A. Böckmann, B. H. Meier, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 5956–5960; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 6078–6082.
-