(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 8 日

2019 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名		逆ミセル封入法によるアミロイドβオリゴマーのNMR構造解析
研究代表者	氏名	星野 大
	所属機関名・部局名	京都大学大学院・薬学研究科
	職名	准教授
事業名 (該当の事業名の右欄に○)		共同研究員
		○ 超高磁場NMR共同利用研究課題
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
		客員フェロー
蛋白研受入担当教員名		宮ノ入 洋平
研究の背景および目的 <p>およそ 40 残基からなるアミロイドβ (Aβ) ペプチドが脳内に蓄積するアルツハイマー病の原因解明は社会的にも重要な課題である。最近の研究により Aβ 数分子からなる「可溶性オリゴマー」が発症に重要な役割を果たすと考えられているが、その構造ならびに生成の分子機構は不明である。本研究では、一般的な溶液条件下において過渡的にしか存在し得ない「可溶性オリゴマー」の構造を高分解能 NMR により解析するための「逆ミセル封入法」を提唱する。</p>		
研究の方法と結果 <p>野生型および変異型 Aβ ペプチド大腸菌大量発原系により作製した。得られた 15N-Aβ ペプチド水溶液を、界面活性剤である Aerosol-OT (AOT) を可溶化した重ヘキササン溶液と速やかに混合することにより、蛋白質分子を一分子ずつ AOT 逆ミセル内に封入した。逆ミセル内に封入したペプチドの 1H-15N HSQC スペクトルを 960 MHz 超高磁場 NMR Avance III HD 分光器にて測定・解析した。</p> <p>二残基めの Ala を Cys に置換し、さらにジスルフィド架橋した A2C-Aβ ダイマーペプチドは、水溶液条件下において速やかに自発凝集する。一方、野生型および A2C-モノマー型の Aβ ペプチドの凝集反応では自発凝集が開始されるまでに数時間から数日のラグタイムが存在する。モノマー型とダイマー型ペプチドにおいて凝集反応が異なる原因として、ダイマー型ペプチドがあらかじめ in-register β-sheet 構造を形成している可能性が示唆されたが、ダイマー型ペプチドは水溶液中において速やかに凝集してしまうため、従来の方法では構造解析が困難であった。そこで、AOT-逆ミセル内に一分子ずつ封入することにより凝集反応を抑制する本手法を A2C-Aβ ダイマーペプチドに適用し、15N-HSQC スペクトルを取得してその構造を解析した。その結果、A2C-Aβ ダイマーペプチドは野生型モノマーペプチドとほぼ同様のスペクトルを示すことが明らかとなった。このことは同時に、二分子以上のより高次の会合状態がランダムコイルから β シート構造への転移に必要であることを示唆する。</p>		