

提出日：平成 29 年 7 月 5 日

平成 28 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	NMRに基づく認知症原因タンパク質のオリゴマー化メカニズムの解析	
研究代表者	氏名	寺沢 宏明
	所属機関名・部局名	熊本大学・大学院生命科学研究部
	職名	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	児嶋 長次郎	
<p>認知症患者の脳内において生じる、アミロイドβ (Aβ)、αシヌクレイン (αSyn) 等の病原タンパク質の可溶性オリゴマーは、高い神経毒性を持つと報告されており、それらオリゴマーの構造解析は、認知症発症機構の解明および認知症治療薬の開発において重要な課題である。我々は、NMR 法と生化学的手法を組み合わせ、Aβ および αSyn の可溶性オリゴマーの構造情報を得る事を目指している。</p> <p>本課題の一つ目の実施事項として、Aβ ダイマーの、PICUP (光架橋反応) を行った。Aβ オリゴマーは分子間でβシート構造を形成すると考えられている。そのβシートが平行か逆平行型か区別するため、配列上に2箇所チロシン残基を持つAβの変異体を構築した。また、分子内架橋産物と分子間架橋産物を区別するため、非標識体と均一<sup>15</sup>N標識体を1:1で混合した試料を調製し解析に用いた。PICUP反応を行い得られた架橋産物を電気泳動してダイマーに相当するバンドを切り出しトリプシンにより消化した。得られた消化産物をLC-MSにより解析した。その結果、逆平行型ダイマーより平行型ダイマーがより多く形成される結果が得られた。これらの成果は、第54回日本生物物理学会において発表した。</p> <p>本課題の2つ目の実施項目として、分子クラウディング効果の模倣媒体としてアガロースゲル中を用いたαSynのインキュベーション実験を行った。50 μM <sup>15</sup>N標識αSynを50 mMリン酸ナトリウム (pH 7.4) の溶液および同溶液を1%, 2%アガロースで固めたサンプルを調製し、4度で28日間静置し、NMR <sup>15</sup>N HSQC測定により経時変化を調べた。その結果、アガロース濃度が高いほど主鎖アミドシグナルの強度が低下する結果となった。シグナルの強度低下は、αSynの一部がオリゴマー化してそのシグナルが検出限界以下まで広幅化して生じた。そのため、アガロース中でαSynのオリゴマー化が促進されると結論した。この成果は、第1回国際磁気共鳴医学会日本支部学術集会において発表した。</p>		

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：平成 29 年 5 月 19 日 (金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp