

(様式 1-1)

提出日：2024 年 5 月 14 日

2023 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## 研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：宗 正智

所属機関名・部局名・職名：京都大学・農学研究科・助教・

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

アミロイド線維および液-液相分離形成過程における構造変化の追跡

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名： 松木 陽 (研究室名：機能構造計測学 )

(5) 研究成果の概要 (公開)

**\*背景および目的、方法と結果、について、公開して差し支えない範囲で 1 ページ以内で記載。**

アミロイド線維はアルツハイマー病やパーキンソン病、透析アミロイドーシスなどに関連する蛋白質凝集としてその構造や形成過程の研究が広く研究されてきた。また、近年ではアミロイド線維形成過程で膜を介さずに蛋白質が溶液の性質をもったまま集合する液-液相分離現象が見られることが多くの天然変性蛋白質で確認されている。さらに、液-液相分離は転写や翻訳など様々な生命反応においても見られその重要性が指摘されている。これらの蛋白質集合体は不溶性高分子複合体であることや不均一で形成過程における相互作用が一過性であることなどから、高分解能での検出が困難であり、分子機構の解明を妨げてきた。しかし、近年の動的核分極を用いた固体 NMR (DNP-NMR) 手法やクライオ電子顕微鏡(Cryo-EM)技術の発展によって不溶性複合体の原子分解能での解析が可能となってきた。本研究ではこれらの最新技術を利用することにより、液-液相分離を経てアミロイド線維へと変遷していく過程を原子分解能で追跡し、蛋白質凝集機構の分子機構を解明する。

本年は、透析アミロイドーシスを代表とするアミロイド病の原因蛋白質である  $\beta_2$ -ミクログロブリンのアミロイド線維形成過程を原子分解能で追跡するための準備段階として、様々な条件下でのアミロイド線維形成実験をおこなった。蛋白質研究所において、蛍光プレートリーダーを用いてアミロイド線維特異的な蛍光プローブであるチオフラビン T のアッセイをおこなった。また、蛍光スペクトルおよび円二色性スペクトルによる構造変化解析をおこなった。これらの結果から、蛋白質安定性と凝集性の関係に関する新たな知見が得られ、理解が深まった。