

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 15 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		組み換え蛋白質を用いた難溶蛋白質凝集体可溶化の方法開発	
研究代表者	氏名	櫻井一正	
	所属機関名・部局名	近畿大学・先端技術総合研究所	
	職名	准教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)		<input type="radio"/>	共同研究員
		<input type="radio"/>	超高磁場NMR共同利用研究課題
		<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
		<input type="radio"/>	客員フェロー
蛋白研受入担当教員名		蛋白質構造生物学部門 後藤祐児教授	
<p>天然の蛋白質がミスフォールディングして生体内でアミロイド線維などの不溶性凝集体を形成し、アルツハイマー病、透析アミロイドーシスなど、さまざまなアミロイドーシスの原因となることが知られている。これら不溶性の凝集体を阻害することがこれらの疾病の予防や治療につながると考えられる。我々はアンフォルジンという、アクチンなどの巨大な重合蛋白質を可溶化する能力を持つ酵母由来の蛋白質を用いることで、難溶蛋白質凝集体の可溶化法の確立を目指している。現在は、そのための実験に供する試料の、大腸菌による大量調製法の確立を目指している。</p> <p>アンフォルジンは大腸菌で大量に発現することは分かっていたが、封入体を形成するため、発現後のリフォールディング操作が必要であった。我々は平成 30 年度までに、ゲルろ過法による脱尿素リフォールディングを行うことで、高収量で折り畳み試料を得られるという結果まで得ていた。そこで今年度は昨年度までの方法から改良し、遅延ゲルろ過法という方法を試した。その結果、活性をもつタンパク質が再現性良く、かつ十分量得られることが確認できた。さらに、サイズ排除クロマトグラフィや原子間力顕微鏡の測定結果から、リフォールディング後のアンフォルジンが想定された多量体を形成していることも確認できた。</p> <p>これらの結果から、発現アンフォルジンのリフォールディング法の確立がほぼ終了したと考えられる。今後は、会合体構造の解析に加え、アミロイド線維解きほぐし実験に本格的に移行し、この蛋白質によるアミロイド線維解きほぐし反応のメカニズムの解明を行っていきたい。</p> <p>また関連項目として、$\beta 2$ ミクログロブリンのアミロイド線維形成に関わる論文発表を、後藤教授との共著も含め 3 報、この年度中に発表した。(Sakurai, K. et al. (2019) <i>Biomolecules</i> 9, 491., Noji, M. et al. (2019) <i>J Biol Chem</i> 294, 15826-15835., Muta, H. et al. <i>Biochemistry</i> 58, 4925-4934.)</p>			