

(様式 1-2)

提出日：2020 年 4 月 29 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	天然変性アミロイド蛋白質の多形構造形成に関する NMR 解析		
研究代表者	氏名	西村 千秋	
	所属機関名・部局名	帝京平成大学・薬学部	
	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	後藤 祐児 教授		
<p>α シヌクレインは生理的条件下でも構造を形成せず、環境によりアミロイドを形成しパーキンソン病を誘発する。A30P と A53T 変異体は家族性パーキンソン病の患者に見られる変異体であり、前者は線維形成を遅くし、後者は線維形成を速くにする。また両変異が同時に起こる場合には、線維の形成量が多くなる。本研究では溶液 NMR を使って解析し、アミロイドを形成する前段階において野生株と変異体で構造に違いがないかを、アミドプロトン交換とシグナル強度を主に用いて調べた。</p> <p>CLEANEX-PM 法を用いると、天然変性蛋白質の速い数ミリ秒のプロトン交換でも追跡できる。CLEANEX-PM により得られた交換速度定数を異なる温度の 25°C と 15°C で求め、その比の値により蛋白質構造の揺らぎの増加や構造形成の増加を評価した。A30P の変異によって、C 端領域の一部の揺らぎ構造の増加が導かれた。また一方、変異の部位を含む N 端領域の一部では両変異体において構造化の上昇が観測された。この部分の初期段階の構造化によって、線維の核形成速度が上昇すると考えられた。</p> <p>さらにシグナル強度が上昇する場合、その部位の揺らぎが上昇したと考え解析した。A30P において C 端領域の揺らぎ構造が上昇した。シグナル強度を測定し、温度を変えた時のシグナル強度の比を求めた。シグナル強度の比からも、両変異体において C 端領域の広い領域で揺らぎの増加が観測された。さらに A30P においても、N 端領域の一部の安定化と揺らぎ構造の上昇が見られた。しかしながら、シグナル強度は複雑であり揺らぎ構造と関係するが、揺らぎ構造が増えて水との交換が速くなった場合には、逆に減少する。他のデータでは T_2 の結果は野生株の場合、N 端領域と C 端領域の化学交換を示唆する結果であり、xNOE の結果も、野生株において N 端領域と C 端領域において構造ができていた。さらに ^{13}C α の化学シフトの結果より、N 端領域はヘリックス構造、C 端領域は β 構造であることが示唆された。</p> <p>このようにアミロイドを形成する前段階の溶液構造中でも野生株と変異体間で構造の差が見られた。N 端領域の変異の影響が C 端領域に観測されたので、α シヌクレインであっても構造形成または複合体形成のあることが示された。アミドプロトン交換とシグナル強度の結果が有意義であることがわかった。</p>			