

(様式 1-2)

提出日：2021 年 5 月 14 日

2020 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	アミロイドβタンパク質の産生を抑制するタンパク質 ILEI の NMR による溶液構造解析	
研究代表者	氏名	日比野絵美
	所属機関名・部局名	名古屋大学・大学院創薬科学研究科
	職名	特任助教
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	
<p><b>目的</b></p> <p>ILEI は、アルツハイマー病の原因とされているアミロイドβの産生を、γセクレターゼ複合体に作用することで抑制することがわかっている。ILEI がγセクレターゼ複合体の活性中心ではない部位に結合することはわかっていたが、直接結合か間接的な結合か確かめられておらず、結合様式は不明であった。本研究の目的は、ILEI とγセクレターゼが直接結合することを確認、結合している場合はその結合部位を同定することである。なお、申請時点で確認されていた C185A 変異体の構造変化抑制現象は再現性が取れず wild-type と差がないことが判明したため、wild-type での実験を進めた。</p> <p><b>結果</b></p> <p><sup>15</sup>N 標識した ILEI において、精製したγセクレターゼの添加前後でのスペクトルの比較をこれまでも試みていたが、膜タンパク質であるγセクレターゼの精製に標準的に使用される界面活性剤 CHAPSO 中では、ILEI が構造変化してしまうことがこれまでにわかっていた。そこでまず、γセクレターゼの調製方法の検討を行った。その結果、別の界面活性剤であるジギトニンでも問題なくγセクレターゼ複合体が保持されたまま精製可能であることが確認できた。つづいて、0.1%ジギトニン中で ILEI の構造が保たれているかどうかを、<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N HSQC スペクトルを測定した。その結果、0.5%CHAPSO 中で見られたような ILEI の構造変化は認められなかった。よって、ILEI とγセクレターゼの結合解析が実施できる条件が整ったため、0.1%ジギトニン下でγセクレターゼを添加した <sup>15</sup>N-ILEI の <sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N HSQC スペクトルを測定した。その結果、いくつかのピークで移動やピーク強度の減弱が認められた。さらに、昨年度までに測定していた 3 次元 NMR スペクトルでは S/N 比が悪く解析が困難であったが、塩濃度を下げることで、ピークの位置はわずかに変化したものの、十分解析可能なデータが得られた。</p> <p>今後は 3 次元 NMR スペクトルのデータを用いて <sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N HSQC スペクトルの帰属を行い、γセクレターゼと結合する ILEI の残基を同定する予定である。</p>		