

アミロイド β の毒性コンホマー特異抗体の結晶構造解析 Crystal structure analysis of the antibody that is specific to the toxic conformer of amyloid beta

入江一浩^{1*}, 入江由美¹, 喜田昭子²

¹京都大学大学院農学研究科,

〒606-8502 京都市左京区北白川追分町

²京都大学複合原子力科学研究所,

〒590-0494 大阪府泉南郡熊取町,

Kazuhiro IRIE^{1*}, Yumi IRIE¹, and Akiko KITA²

¹Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan

²Institute for Integrated Radiation and Nuclear Science, Kyoto University,

Kumatori, Sen-nan, Osaka 590-0494, Japan

1 はじめに

アルツハイマー病 (AD) に特異的な病理学的特徴の一つとして、アミロイド β タンパク質 ($A\beta$) を構成成分とした老人斑が知られている。 $A\beta$ の神経細胞毒性は、主としてオリゴマー状態で発現すると考えられていることから、 $A\beta$ オリゴマーは AD の治療標的の一つとして注目されている。 $A\beta$ 及びそのオリゴマーは構造に多様性があり、NMR や計算化学によって構造解析・予測がなされているが、神経細胞毒性に関わる立体配座は不明であった。本研究グループの入江らは、系統的なプロリン置換法ならびに固体の NMR 法などにより、 $A\beta_{42}$ の Glu22, Asp23 残基付近でのターン構造 (毒性ターン) を特徴とした「毒性コンホマー」の存在を明らかにした [1-3]。毒性コンホマーをもつ $A\beta_{42}$ が会合して毒性を示すオリゴマーになるものと考えられる。

続いて入江らは、 $A\beta_{42}$ の Glu22 を Pro 置換することにより毒性ターン構造を模倣した配座固定ペプチドを設計し、それをマウスに免疫することによって、E22P- $A\beta_{42}$ に強く結合する 11A1 及び 24B3 抗体を得ることに成功した [4]。本研究では、野生型 $A\beta_{42}$ から形成される毒性オリゴマー構造を標的とした立体構造特異抗体の開発を最終目標として、まず、11A1 及び 24B3 抗体とそれらのハプテンペプチドである E22P- $A\beta_{42}$ の各種フラグメントペプチドとの複合体の結晶化と構造解析を行なった。

2 実験

E22P- $A\beta_{42}$ の様々な長さのフラグメントペプチド存在下で、24B3 から調製した Fab ドメインとの複合体の結晶化を進め、ポリエチレングリコールを中心とした多数の結晶化条件下で、針状またはクラスター状結晶が得られた。ごくわずかな単結晶部分から良質で高分解能の回折強度データを収集するために、シンクロトロン放射光で回折強度データ収集を行い、

PDB に登録された抗体座標を使った分子置換法で構造解析を行った。

3 結果

様々な長さの E22P- $A\beta_{42}$ フラグメントと 24B3 抗体 Fab ドメインとの共結晶の構造解析を行ったところ、E22P- $A\beta_{42}$ の 24 残基からなるフラグメントを用いた時に得られた複合体結晶の反射強度データに対して、既存のアミロイド β 抗体座標 (PDBcode: 3bkc) をモデルとした分子置換法で構造解析を行ったときに、初めて E22P- $A\beta_{42}$ フラグメント由来と考えられる電子密度図を得ることに成功した (図 1)。現在、構造の精密化を進めている。

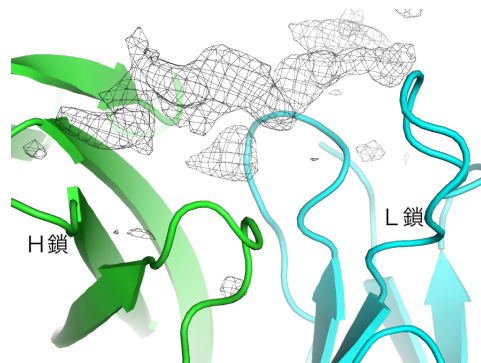


図 1. E22P- $A\beta_{42}$ フラグメント由来と考えられる電子密度図 (3 σ).

参考文献

- [1] A. Morimoto *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **279**, 52781 (2004).
- [2] K. Irie *et al.*, *J. Biosci. Bioeng.*, **99**, 437 (2005); K. Murakami *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 15168 (2005).
- [3] Y. Masuda *et al.*, *ChemBioChem.*, **10**, 287 (2009).
- [4] K. Murakami *et al.*, *ACS Chem. Neurosci.*, **1**, 747 (2010); K. Murakami *et al.*, *Sci. Rep.*, **6**, 29038 (2016).

本研究の一部は、科研費・基盤研究 (S) により行われた (課題番号: 26221202)。

* irie@kais.kyoto-u.ac.jp