

# 毒性コンホマーをもつアミロイド $\beta$ フラグメントとその特異抗体複合体の結晶構造解析

## Crystal structure analysis of the antibody complexed with an amyloid $\beta$ fragment with the toxic conformer

入江一浩<sup>1,\*</sup>, 入江由美<sup>1</sup>, 喜田昭子<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>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

<sup>2</sup>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<sup>1,\*</sup>, Yumi IRIE, and Akiko KITA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto 606-8502, Japan

<sup>2</sup>Institute 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である老人斑の構成成分は、アミロイド  $\beta$  タンパク質 ( $A\beta$ ) である。42 残基からなる  $A\beta_{42}$  はオリゴマー化しやすく、神経細胞毒性を示すとともに不溶性のアミロイド線維を形成する。 $A\beta_{42}$  の毒性は準安定なオリゴマーによってもたらされると考えられており、 $A\beta$  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。筆者の入江らは、系統的なプロリン置換や固体 NMR 法を用いて、 $A\beta_{42}$  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]。毒性コンホメーションをもつ  $A\beta_{42}$  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、 $A\beta_{42}$  の Glu22 を Pro 残基に置換することによって毒性ターン構造を模倣した配座固定ペプチド・E22P- $A\beta_{9-35}$  を設計し、それをマウスに免疫することにより、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]。

野生型  $A\beta_{42}$  から形成される毒性コンホマーならびに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目的として、11A1 および 24B3 Fab ドメインと、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ってきた。これまでの課題 (2017G007) において、24B3 抗体と E22P- $A\beta_{11-34}$  の複合体構造を得て、24B3 抗体が 22 番目のプロリン残基を中心とした前後数残基を認識していることを明らかにした [5]。今回、もう一つの 11A1 抗体について同様の共結晶構造解析を行った [6]。

### 2. 実験と結果

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、11A1 抗体から調製した Fab ドメインとの

複合体の結晶化を進めた。共にポリエチレングリコール (PEG) を主たる結晶化試薬として用いた多くの条件から微結晶またはクラスター状結晶を得ることができた。エチレングリコールまたはグリセロールをクライオプロテクタントとして結晶を液体窒素温度に瞬間冷却し、PFへ送付して BL1A または BL17A で自動測定により回折データ収集を行った。回折強度データ処理は XDS [7] で行い、構造解析は CCP4 パッケージ [8] 内の Molrep [9] を用いて、既に得られている 11A1 および 24B3 Fab ドメインのネイティブ構造 ( $A\beta$  非結合型構造) の座標を用いた分子置換法で行った。反射強度データを収集できた 70 種類以上の結晶全ての構造解析を行った結果、11A1 抗体の Fab ドメインに、 $A\beta_{10-34}$  の Tyr10-His14 部分が結合した複合体構造を得ることができた [6] (図 1)。

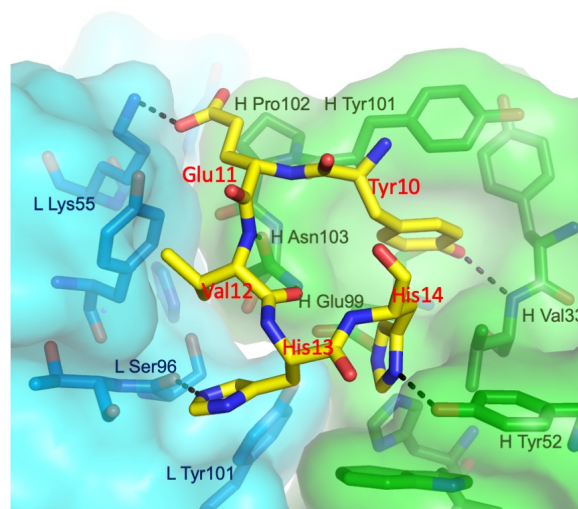


図 1. 11A1 Fab- $A\beta_{10-34}$  複合体の N 末端領域の構造  
 $A\beta$ : イエロー, 11A1 Fab L 鎖: ブルー,  
 11A1 Fab H 鎖: グリーン, PDB code: 7BXV.

A $\beta$ 42 の N 末端領域を認識する抗体はこれまで複数報告されていたが, Tyr10–His14 を認識するものはなかった. A $\beta$ 42 の N 末端領域の 14 残基はその凝集体 (オリゴマー) において disorder な状態にあることが知られている. 11A1 は, disorder な構造の根元を認識することにより, truncate された A $\beta$  代謝物も検出できる点で優れた抗体である. 実際, 11A1 は, neuron, astrocyte, perivascular, extracellular いずれにおいても A $\beta$  凝集体を高感度で検出した [6].

## 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).
- [5] K. Irie *et al.*, *Photon Factory Activity Report 2018*, **36** (2019).
- [6] A. Saito *et al.*, *BioRxiv*, doi: 10.1101/2021.06.07.438832.
- [7] W. Kabsch, *Acta Crystallogr.* **D66**, 125 (2010).
- [8] MD. Winn *et al.*, *Acta Crystallogr.* **D67**, 235 (2011).
- [9] A. Vagin *et al.*, *Acta Crystallogr.* **D66**, 22 (2010).

本研究の一部は, 科研費・基盤研究 (S) および (A) により行われた (課題番号: 26221202, 19H00921) .

\* irie.kazuhiro.2z@kyoto-u.ac.jp