

流れによるタンパク質の構造変化のレオロジー-SAXS法を用いたその場観察 In situ observation of shear flow-induced structural changes of proteins by Rheology SAXS techniques

森本大智^{1,*}

¹京都大学大学院工学研究科分子工学専攻
〒615-8510 京都府京都市西京区京都大学桂

Daichi MORIMOTO^{1,*}

¹Department of Molecular Engineering, Kyoto University,
Kyoto Daigaku Katsura, Nishikyo-ku, Kyoto, Japan

1 はじめに

高齢化社会の中で認知症患者増加は深刻な社会問題である。健康的な長寿社会を実現するためには、出来るだけ早い段階で認知症患者の増加に歯止めをかけなければならない。認知症を生じる様々な神経変性疾患は、脳内のタンパク質の異常な凝集が発症原因の一つと考えられているが、現在根本的な治療は困難である。疾患の理解や治療法の開発にはタンパク質の微小な変化を捉える必要があるが、既存の手法では凝集形成を高い時空間分解能で追跡することが困難であり、オリゴマー形成といった疾患発症に重要な過渡的な凝集過程を捉えることが難しい。

このような背景のもと、我々のグループは NMR 実験用の攪拌装置(特許 7255801)を開発し、タンパク質の凝集の「その場」を原子レベルで観察できるレオロジー-NMR 法を確立した^[1]。そして最近、本手法を用いて、ALS 関連タンパク質 SOD1 の線維形成を追跡し、世界で初めてタンパク質の線維化過程を原子レベルで観察することに成功した^[2]。しかし、タンパク質の構造変化や結果である線維形成を真に理解するためには、微細な構造解析だけではなく、分子レベルの形状および状態変化を追跡し、解析する必要がある。そこで、本研究ではマテリアル研究のために開発されたレオロジー-SAXS 法を生体分子測定用に改良し、メゾスケールのタンパク質の分子形状の変化を解析し、レオロジー-NMR 法では捉えきれない自己会合や会合体の形態変化を解明する。

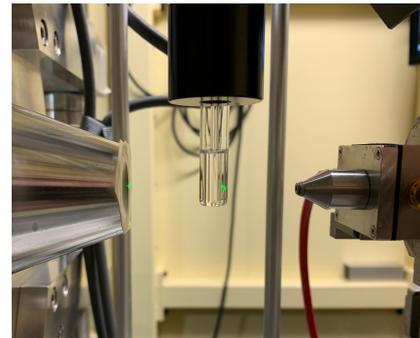
2 実験

本研究では、SAXS 実験に最適な精度の高い二重同心円攪拌装置(クエットセル)を作製し、新たにレオロジー-SAXS 装置を構築した(図)。光軸に対し鉛直方向(Z 軸)の調整は PF で利用可能なラボジャッキを用いておこなった。X 線は内管と外管に挟まれた溶液試料に照射し、X 線小角散乱データを取得した。

測定試料は大腸菌発現系により大量に調製した SOD1 を用いた。SOD1 は本研究の先行研究により、攪拌によって 24 時間程度で再現よく SOD1 がアミロイド線維を形成することを観察しているため^[2]、本実験では攪拌中に断続的な SAXS 測定を計画した。

3 結果および考察

BL6A SAXS 測定装置に自作したクエットセルを設置し、光路が内管と外管に挟まれた溶液試料を通過することをレーザー光で確認した(図)。さらに、顕著な振動なく安定して 2000 rpm まで溶液を攪拌できることを確認した。しかし、石英製のクエットセルを使用したため、薄型化したものの、X 線散乱光が透過せず静置時でも散乱データを取得できなかった。



図：開発した二重同心円攪拌装置。

4 まとめ

今後、クエットセルの更なる薄型化または X 線透過率が高くタンパク質吸着が少ない材質のクエットセルを作製し、X 線散乱実験を実施する予定である。

謝辞

本研究を実施するにあたり、理化学研究所 清水伸隆グループディレクター、横浜市立大学 有田恭平教授、京都大学 菅瀬謙治教授から多大なる助言および指導を賜りました。また、本研究は JSPS 科研費 JP22K06168、JST 創発的研究支援事業 JPMJFR2227 の助成を受けたものです。

参考文献

- [1] D. Morimoto, *et al.* Anal Chem, 89(14), 7286-7290, (2017).
- [2] N. Iwakawa, D. Morimoto, *et al.* J Am Chem Soc, 143, 28, 10604-10613, (2021).

morimoto.daichi.3x@kyoto-u.ac.jp