

分子・物質合成領域における支援成果：超高磁場NMRナノ計測支援 920MHz超高磁場NMRによるアミロイドβペプチドの重合開始機構の 構造生物学的基盤の解明

^a長寿医療センター研究所, ^b分子科学研究所

柳澤勝彦^a, 矢木真穂^b, 加藤晃一^b

【研究目的】

細胞膜上に存在する糖脂質は、細胞間接着やシグナル伝達、細菌の感染といった様々な生命現象に関与している。糖脂質は細胞膜上で孤立して存在するのではなく、動的なクラスターを形成することが知られており、このクラスター化が糖脂質の機能発現において重要であると考えられている。我々はこれまでに、神経細胞膜表層に豊富に存在するGM1ガングリオシドのクラスターが、アミロイドβ(Aβ)の重合を促進し、アルツハイマー病発症に密接に関与していることを見出している。さらに、NMR解析を通じて、GM1クラスター上で誘起されるAβの構造転移および分子間相互作用を解明し、クラスター上におけるAβの重合開始機構を明らかとしている。しかしながら、このようなAβ重合を促進するクラスター側の詳細な集合メカニズムや三次元構造については未だ明らかとなっていない。そこで本研究では、糖脂質クラスターの構造および集合様式を原子レベルで解き明かすことを目的とし、バイセルを応用した糖脂質クラスターのNMR解析を行った。

【成 果】

糖脂質クラスターのモデルとしてリポソームやミセルが広く用いられているが、それらはサイズが大きすぎるためにNMRシグナルが広幅化により消失してしまう問題がある。そのため本研究では小型化が可能で、かつ二重膜構造を持つバイセルに着目して実験を行った。具体的には神経細胞膜上に豊富に存在するガングリオシドGM1、GM2、およびGM3を、DMPC(1,2-dimyristoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine)とDHPC(1,2-dihexanoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine)から成る小型バイセルに組み込む方法を検討した(図1)。その結果、総DMPC濃度の20~50%に対応する量のガングリオシドを安定にバイセルに組み込むことができることが明らかとなった。また、総脂質濃度に対応するバイセルサイズを検討した結果、DMPC:DHPC=1:2の時に最も小型なバイセルを調製可能であることが判明した。次に、実際に調製した各種ガングリオシド含有バイセル試料の二次元NMR測定を行った結果、各ガングリオシド由来のピークを明瞭に観測することに成功した。これらのガングリオシドはいずれも単独では水中で巨大なミセルを形成するためNMRの観測は不可能であったが、小型のバイセルに組み込むことで、解析可能なスペクトルを得ることが可能となった。また調製したバイセル溶液にAβを添加したところ、GM1を含有したバイセルが顕著にAβの凝集を誘起することが判明した。これらのことから、ガングリオシド含有バイセルが膜環境下におけるガングリオシドのNMR解析に有用なモデルであることが示された。これにより、糖脂質クラスターの構造および集合様式を研究するための基盤を整えることができた。今後は、今回構築した技術基盤をもとに、ガングリオシドクラスターの詳細な超分子構造解析を実施し、クラスター形成を駆動している糖-糖相互作用、糖-脂質相互作用、および脂質-脂質相互作用のネットワークの構造基盤を解明していきたい。

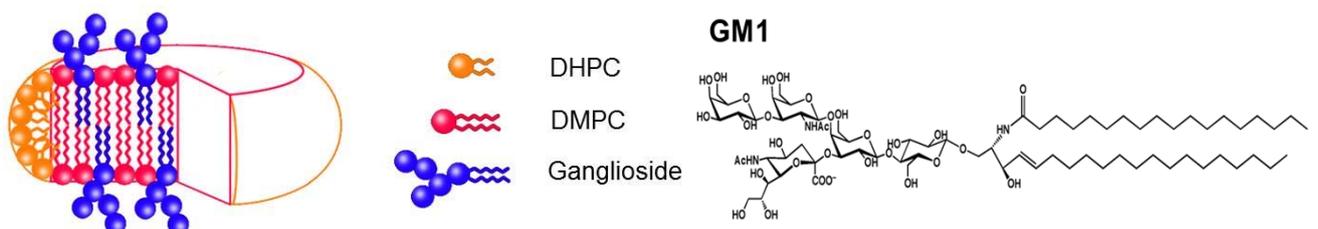


図1 ガングリオシド含有バイセルのモデル図(左図)およびガングリオシドGM1の構造式(右図)