

# 凝集抑制に関する insulin B-chain と $\alpha$ B-crystallin 複合体解析

Structural analysis of

杉山 正明<sup>1)</sup>, 茶谷 絵理<sup>2)</sup>, 井上 倫太郎<sup>1)</sup>, 守島 健<sup>1)</sup>

Masaaki SUGIYAMA

Eri Chatani

Rintaro INOUE

Ken MORISHIMA

<sup>1)</sup>京都大学複合原子力科学研究所

<sup>2)</sup>神戸大学

## (概要)

我々は、insulin B-chain をモデルタンパク質としてアミロイド線維形成機構の解明を試みてきた。その中で、シャペロン機能を有する $\alpha$ -crystallin( $\alpha$ -cry)が B-chain と複合体を形成することで線維化を阻害することが明らかとなった。この複合体中の $\alpha$ -cry の空間分布を解明するために、部分重水素化 $\alpha$ -cry と軽水素体 B-chain により構成される複合体の小角中性子散乱測定を行った。その結果、部分重水素化 $\alpha$ -cry と軽水素体 B-chain により構成される複合体の  $Q$ 依存性が軽水素化 $\alpha$ -cry と軽水素体 B-chain により構成される複合体と比較して小さくなった。この結果から、複合体中で $\alpha$ -cry が主に外側に配位していることが明らかとなった。

**キーワード**: アミロイド線維、重水素化、シャペロン

## (1行あける)

### 1. 目的

プリオン病やアルツハイマー病に代表される神経変性疾患等の多くの重篤疾患に関与するアミロイド線維は、タンパク質の異常凝集によって形成される。我々は、これまで insulin B-chain をモデルタンパク質としてアミロイド線維形成機構の解明を試みてきた [1, 2]。我々は insulin B-chain 単体で線維化が進行する溶液条件下で、シャペロン機能を有する $\alpha$ -crystallin ( $\alpha$ -cry) の共存及び非共存下で最終的に形成される複合体の構造解析を X 線小角散乱法 (SAXS) により調べた。図 1 は観測された SAXS プロファイルを断面ギニエ解析により求めた半径 ( $R_c$ ) の重水比率依存性の結果を示す。最終的に形成される  $R_c$  は B-chain 単体及び $\alpha$ -cry と B-chain の混合溶液共に、重水比率によらず一定であった。興味深いことに、 $\alpha$ -cry と B-chain の混合溶液の  $R_c$  が B-chain 単体よりも大きな値を示した。この結果は、溶液中で $\alpha$ -cry と B-chain が複合体を形成したことを示唆し、この複合体が更なる線維化を阻害したと考えられる。しかしながら、SAXS 測定のみではこの複合体中で両成分がどのように空間的に配置しているかに関する詳細な情報を得ることができない。我々は、75%程度重水素化 (pd) したタンパク質は 100%重水素中で中性子小角散乱 (SANS) により散乱的に不可視化できることを見出した、そこで、軽水素化 B-chain (h-B-chain) と pd- $\alpha$ -cry との混合により形成される複合体の SANS 測定により特に、 $\alpha$ -cry の複合体中の空間分布に関する情報を得ることが出来ると期待される。そこで、本研究は pd- $\alpha$ -cry を用いた複合体の SANS 測定を行うことで、 $\alpha$ -cry の複合体中の空間分布の解明を試みた。

### 2. 方法

100%重水に溶解した軽水素化 B-chain (h-B-chain) と h- $\alpha$ -cry により形成される複合体と軽水素化 B-chain (h-B-chain) と pd- $\alpha$ -cry により形成される複合体の SANS 測定を SANS-J により行った。測定は室温で行い、特に 4m 及び 2m のカメラ長を用いた。得られた散乱画像は円環平均により一次元化を行った。

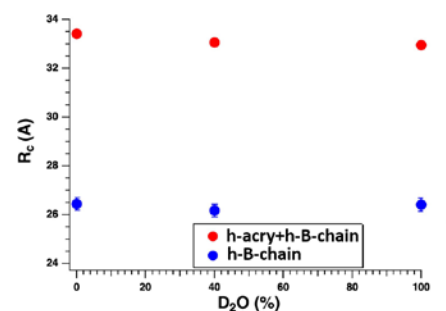


図 1 B-chain 単体(青丸)、 $\alpha$ -cry と B-chain の混合溶液(赤丸)の  $R_c$  の重水比率依存性。

### 3. 結果及び考察

図2は軽水素化 B-chain(h-B-chain)と h- $\alpha$ -cry により形成される複合体と軽水素化 B-chain(h-B-chain)と pd- $\alpha$ -cry により形成される複合体の SANS プロファイルを示す。上述したように、pd- $\alpha$ -cry は 100%重水中で散乱的に不可視化されるため、と軽水素化 B-chain(h-B-chain)と pd- $\alpha$ -cry により形成される複合体は h-B-chain の散乱情報を反映する。興味深いことに、部分重水素化 $\alpha$ -cry と軽水素体 B-chainにより構成される複合体の  $q$ 依存性が軽水素化 $\alpha$ -cry と軽水素体 B-chain により構成される複合体と比較して小さくなった。この結果は、複合体中で $\alpha$ -cry が主に外側に配位していることを意味する。即ち、 $\alpha$ -cry の外側への配位が更なる線維化に寄与したと考えられる。他の計測結果と併せて、更なる解析を進めている。

### 4. 引用(参照)文献等

1. E. Chatani et al. Biochemistry, 58 (2019) 2769.
2. E. Chatani et al. Molecules, 27 (2022), 3964.

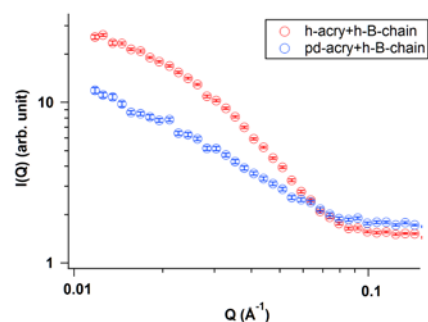


図2 軽水素化 B-chain(h-B-chain)と h- $\alpha$ -cry により形成される複合体(赤丸)及び pd- $\alpha$ -cry により形成される複合体(青丸)の SANS プロファイル。