

## 2点架橋したA $\beta$ 2量体を基準としたAFMによるオリゴマーの構造解析

### Structure Analysis of Amyloid $\beta$ Oligomers Linked at Two Positions

滋賀医大<sup>1</sup>, 天理よろづ相談所病院<sup>2</sup>, 京大院農<sup>3</sup>, 同志社大<sup>4</sup>

○原田 力<sup>1</sup>, 松井温哉<sup>1,2</sup>, 入江由美<sup>3</sup>, 内野歩美<sup>3</sup>, 筑後文馨<sup>3</sup>, 藤井洸太郎<sup>1</sup>,

細井克馬<sup>1</sup>, 中西章夫<sup>1</sup>, 景山裕介<sup>1</sup>, 成瀬延康<sup>1</sup>, 塚野千尋<sup>3</sup>, 入江一浩<sup>3,4</sup>, 目良 裕<sup>1</sup>

Shiga Univ. of Med. Sci.<sup>1</sup>, General Care & Education Tennri Hosp.<sup>2</sup>, Kyoto Univ.<sup>3</sup>, Doshisya Univ.<sup>4</sup>

○Chikara Harada<sup>1</sup>, Atsuya Matsui<sup>1,2</sup>, Yumi Irie<sup>3</sup>, Ayumi Uchino<sup>3</sup>, Ayaka Chikugo<sup>3</sup>, Kotaro Fujii<sup>1</sup>,

Katsuma Hosoi<sup>1</sup>, Akio Nakanishi<sup>1</sup>, Yusuke Kageyama<sup>1</sup>, Nobuyasu Naruse<sup>1</sup>, Chihiro Tsukano<sup>3</sup>,

Kazuhiro Irie<sup>3,4</sup>, Yutaka Mera<sup>1</sup>

E-mail: ds112277@g.shiga-med.ac.jp

アルツハイマー病 (AD) の発症メカニズムの解明は、医学における未解決の重要課題である。特にアミロイド  $\beta$  (A $\beta$ ) ペプチドの凝集体、とりわけそのオリゴマー (n 量体) の形態が AD 病理に深く関与していることが広く認識されつつある。A $\beta$  オリゴマーは数 nm から数十 nm 程度の大きさを持ち、その形態や種類が多様であるため、X 線回折法や分光法、走査電子顕微鏡法などの従来手法では十分な分類や詳細な形態情報を得ることは難しい。そのため、これまでは原子間力顕微鏡 (AFM) を用い、A $\beta$  オリゴマーの AFM 像におけるコントラストを基にサイズの推定や分類が試みられてきた。しかしながら、AFM プローブ先端の曲率半径が通常 5–6 nm であるため、基板上に存在する数 nm サイズのオリゴマーの水平方向の絶対的な寸法を議論するのは容易ではなかった。また、オリゴマーの多様性も相まって、AFM 画像のコントラストのみで A $\beta$  オリゴマーの正確なサイズや種類を特定し、その形態を議論することはきわめて困難であった。

本研究では、A $\beta$  の分子間共有結合形成により平行  $\beta$  シート構造を安定化させるとともに、凝集を抑制した各種 A $\beta$  ダイマーおよびトリマーを合成し、AFM 像の高さ情報が 0.01 nm の精度で議論可能である点に着目して、これらのオリゴマーの形態モデルの高さを元にオリゴマーの種類と形状を推定する方法の確立を目的とした。まず、A $\beta$  鎖の 2 箇所を 2 種類の共有結合 (C–C、S–S) で架橋した 3 種類の A $\beta$  ダイマーを合成した。これらのダイマーはいずれも溶解直後に球状粒子として観測された。測定時におけるこれら構造の配向のばらつきを考慮し、球状粒子のラインプロファイルから得られる高さのヒストグラムを定量的に解析した。その結果、各ダイマーは架橋位置の違いに関わらず、同様の高さ分布を示し、約 0.37 nm、約 0.51 nm の 2 つのピークが強度比 2:1 で観測された。主ピークは、分子間平行  $\beta$  シートを形成している A $\beta$  ダイマーの高さと解釈され、これを基準として各種オリゴマーの大きさと形状の議論が可能となった。例えば、合成したトリマーの一つから得たヒストグラムには約 0.50 nm のピークが観測され、分子間平行  $\beta$  シート構造の存在が示唆された。以上の結果は、AFM を用いて様々な A $\beta$  凝集体の大きさと形状を正確に分類するための方法論的枠組みを提示するだけでなく、AD 病理における A $\beta$  凝集の理解や凝集体の形態に基づく抗体医薬開発にも貢献するものである。