

蛍光プローブによりインスリンアミロイドのキラリティを明らかに

【概要】

タンパク質は高温や酸性などの変性条件下で、アミロイドとよばれる、アルツハイマー病などの様々な疾患の原因とされる線維状の凝集体を形成することが知られています。一方、アミロイドには構造多型が存在することが明らかになっており、とくに近年、線維のねじれ方向が逆の、キラリティが異なるアミロイドが注目されています。例えば、インスリンは、異なる pH において、ねじれ方向が異なるアミロイドが生成されることが分かっていました。今回、キラリティ特性を有する蛍光プローブが、これらキラリティの異なるインスリンアミロイドに結合する際に示す光学的応答の差異を明らかにしました。キラリティは化学物質の性質を決める重要な因子であり、本研究により、アミロイドキラリティを蛍光プローブで判別するという、簡便な手法への応用が期待できます。

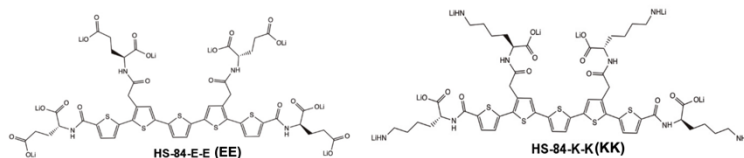
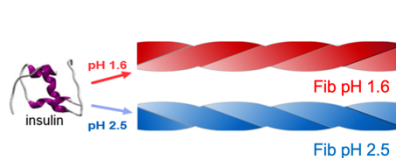
本研究成果に関する論文は、欧学術誌「ChemPhotoChem」に掲載され、オンライン版で公開されました（2024 年 9 月 22 日（日本時間））。

【詳細】

糖尿病治療に用いられるペプチドホルモンの1種であるインスリンは高温・酸性条件下でアミロイド凝集を形成することが知られています。アミロイド凝集はアルツハイマー病など、様々な病気の原因になると考えられています。一方で、アミロイド凝集にも様々な構造が存在するなど、構造多型を示すことが明らかになり、疾病との関連についても、さらに注目されています。インスリンについても、異なる pH において、ねじれ方向が逆の、つまりキラリティが異なるアミロイドが生成されることが報告されていました。

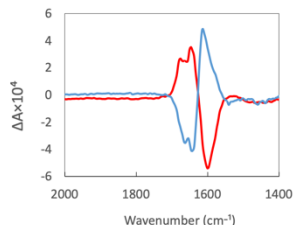
これまでに共同研究グループは、アミロイドの構造多型を識別できる新規蛍光プローブ LCO(Luminescent Conjugated Oligothiophene)を開発してきました。例えば、これまでに、LCO は毒性が異なるインスリンアミロイドを識別できることを示してきました（2020 年 10 月 14 日プレスリリース）。本研究では、新たに開発された、アミノ酸を骨格に有し、異なるキラリティをもつ蛍光プローブを用いて、上記のねじれが異なるインスリンアミロイドに対する結合および分光特性を評価しました。

キラリティが異なるインスリンアミロイドは、インスリンを pH 1.6 もしくは 2.5 でインキュベートすることで生成しました(Fib pH 1.6, Fib pH 2.5)。アミロイドのキラリティは、佐藤久子研究員（プロジェクトリーダー、元大学院理工学研究科 教授）が開発した、赤外円二色性(VCD)分光装置により評価しました。それらのアミロイドに対し、蛍光プローブ HS-84-E-E (EE), HS-84-K-K (KK)を反応させました。誘導円偏光二色性(ICD)スペクトルを測定したところ、EE, KK は互いに反転した ICD スペクトルを示しましたが、アミロイド存在下では、アミロイドのキラリティに従って構造変化することがわかり、これらのプローブはアミロイドのキラリティを認識して結合していることが分かりました。また、高濃度の EE 存在下においては、アミロイドのキラリティにより異なる蛍光強度を示し、EE が右巻きのねじれ構造を有する Fib pH 2.5 により強く結合することが分かりました。キラリティは化学物質の性質を決める重要な因子であり、本研究により、アミロイドキラリティを蛍光プローブで判別するという、新規な手法への応用が期待できます。

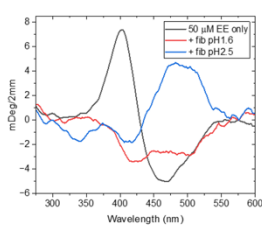


キラリティが異なるインスリンアミロイド

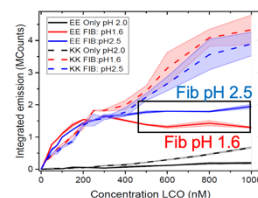
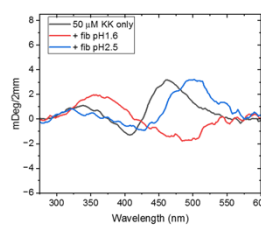
今回用いたキラル蛍光プローブ (EE, KK)



赤外円二色性(VCD)



誘導円偏光二色性(ICD)



蛍光強度

図 キラリティが異なるインスリンアミロイドへの、キラル蛍光プローブの結合および分光特性

【研究体制と支援について】

本研究は、愛媛大学理学部を中心に、ノルウェー科学技術大学(ノルウェー)、リンショーピン大学(スウェーデン)との国際共同研究として行われました。また、本研究の主な結果は、学術交流協定校であるノルウェー科学技術大学のミカエル・リンドグレン教授が客員教授として理学部に滞在中、大学院理工学研究科の渡辺嵩大さんとの緊密な連携により得られたもので、国際交流の成果でもあります。

研究の実施にあたっては、日本学術振興会(JSPS)科学研究費助成事業、愛媛大学リサーチユニット「先端ナノ・バイオ分析研究ユニット」、Swedish Research Council の支援を受けました。