

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Development of Solid-state NMR Methods using Ultra-fast Magic Angle Spinning and Their Applications for Protein Characterization
著者(和文)	WIJALATH PELIGE Ayesha Sandamali Wickramasinghe
Author(English)	Ayesha Sandamali Wickramasinghe Wijalath Pelige
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12025号, 授与年月日:2021年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:石井 佳誉,村上 聡,相澤 康則,田口 英樹,上野 隆史
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12025号, Conferred date:2021/6/30, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

## 論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第		号	学位申請者氏名		WIJALATH PELIGE Ayesha Sandamali Wickramasinghe	
論文審査 審査員		氏名		職名		氏名	職名
	主査	石井 佳誉		教授	審査員	上野 隆史	教授
	審査員	村上 聡		教授			
		相澤 康則		准教授			
田口 英樹			教授				

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は” Development of solid-state NMR methods using ultra-fast magic angle spinning and their applications for protein characterization “と題し、付加的な章である Appendix を除くと 3 章から構成される。

第 1 章序論では、本論文で主要な測定法として使われている NMR と magic angle spinning (MAS)法を用いた高分解能固体 NMR の概説の後、本研究の題材である 90kHz 程度の超高速の試料回転である ultra-fast MAS (UFMAS)法と  $^1\text{H}$  核の検出を用いた固体 NMR の感度増加とこれらの手法を利用したタンパク質への応用研究の概説が行われている。

第 2 章の”Sensitivity-enhanced SSNMR detection of structural differences and unique polymorphs in pico- to nanomolar amounts of brain-derived and synthetic 42-residue amyloid- $\beta$  fibrils “では 2 種類の A $\beta$ 42 fibril 試料に対して、高磁場固体 NMR による先端構造解析が可能であることが示された。アルツハイマー病(AD)患者の脳内で形成する A $\beta$ 42 fibril は AD のリスクファクターと考えられているが、生理学的な pH で作成された in vitro 由来の試料については固体 NMR によるほぼ同じ構造が 3 例あるだけであり、脳由来の A $\beta$ 42 fibril の構造については知見がほとんどない。構造解析を困難としている原因として、従来の  $^{13}\text{C}$  核の検出を利用した固体 NMR 法では数 mg レベル (~1  $\mu\text{mol}$ ) 程度の多量の A $\beta$ 試料が必要であることがある。本研究により  $^1\text{H}$  核の検出と UFMAS 法を利用した高感度の固体 NMR 法を用いることで 200  $\mu\text{g}$  (~40 nmol) 程度の試料で解析が可能になることが明らかにされた。特に前半の脳試料由来の A $\beta$ 42 fibril に関する研究結果では、AD 患者由来の A $\beta$  fibril を核として、特定の残基を選択的に  $^{13}\text{C}$  標識して合成した A $\beta$ 42 のモノマーを加えて A $\beta$ 42 fibril の試料作成を行うことで、従来よりも 2~3 桁少ないわずか 20 ng (~4 pmol)程度という極微量の脳アミロイド試料を用いた固体 NMR 解析が可能になることを示した。(試料作成は共同研究者による) データ解析によりこの患者由来の A $\beta$  fibril の構造が報告されている in vitro で作成された A $\beta$ 42 fibril の構造とは大きく異なることが示唆された。患者由来の A $\beta$ 42 fibril の構造についての貴重な知見を与える重要な結果となる。本章の後半では大腸菌で A $\beta$ の単量体を発現し、in vitro で pH~7.4 の条件下で fibril に self-assembly させることにより作成した均一  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  ラベル A $\beta$ 42 fibril を利用して 3~4 次元の高次元固体 NMR を行うことにより 200  $\mu\text{g}$  程度の試料でも  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ ,  $^{15}\text{N}$  信号の完全帰属が可能であることを初めて示した。得られた化学シフトからこれまで報告されていないタイプの A $\beta$ 42 fibril の構造であることが示唆された。A $\beta$ 42 fibril が生理学的な pH 条件下で複数の構造を取ることが明確となった点で本研究結果は重要である。

第 3 章の” Evolution of CPMAS under fast magic angle spinning at 100 kHz and beyond “では UFMAS を用いた  $^{13}\text{C}$  CPMAS 法の発展が示されている。非常に弱い RF 波を用いた WALTZ-16 と呼ばれる溶液 NMR 用に開発された  $^1\text{H}$  デカップリング法が UFMAS を用いた  $^{13}\text{C}$  CPMAS 固体 NMR 法では非常に有効であることが初めて示された。

以上を要するに、非常に多くの研究が行われているが構造がほとんど知られていない A $\beta$ 42 fibril に関して、AD 脳由来の試料も含めて 2 例の新規の構造モチーフを持つ fibril が存在することを初めて実験的に示した。新規の固体 NMR 法を導入することで方法論の進展も進めており理学に貢献するところが大きい。よって本論文は博士 (理学) の学位論文として十分な価値があると認められる。

注意: 「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。