

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Structural insights into Arctic mutant (E22G) A 40 fibrils using solid-state NMR and cryoEM
著者(和文)	TEHRANIMohammad
Author(English)	Mohammad Tehrani
出典(和文)	学位:博士(学術), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12926号, 授与年月日:2024年9月20日, 学位の種別:課程博士, 審査員:石井 佳誉,上野 隆史,林 宣宏,田口 英樹,村上 聡
Citation(English)	Degree:Doctor (Academic), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12926号, Conferred date:2024/9/20, 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

(2000字程度)

報告番号	乙 第 号	学位申請者	JAFAR TEHRANI Mohammad	
	氏 名	職 名	氏 名	職 名
論文審査員	主査 石井 佳誉	教授	上野隆史	教授
			林宣宏	教授
			田口英樹	教授
			村上聡	教授

本論文は”Structural insights into Arctic mutant (E22G) A β 40 fibrils using solid-state NMR and cryoEM”と題し、付加的な章である Supplementary Data を除くと 4 章から構成される。

第 1 章”Basic Concept”では、本論文における主要な題材であるアルツハイマー病(AD)を含む神経変性病とアミロイド線維の特徴の概説が行われている。また、本論文における中心的な課題となる β -amyloid (A β)などのアミロイド線維の構造の特徴と構造解析についての概説がされている。AD で見られる老人斑形成と A β のアミロイド線維の脳への蓄積、本研究の中心的題材である E22G 変異を持つ A β が原因となり発症を早める家族性の AD についてもその特徴と分子病理に関して説明がされている。

第 2 章の”Material and Method”では本論文で研究に使われた試料の作成方法が具体的に説明されている。また、線維形成過程や E22G A β 40 線維の分子構造の解析に使われた Thioflavin-T (ThT) 蛍光法や、透過電子顕微鏡(TEM)、固体 NMR、クライオ電顕 (cryoEM) などを使った解析が記述されている。

第 3 章”Structure and kinetics of E22G A β 40 fibril highlight how A β 40 rather than A β 42 may trigger FAD”は本論文の主要な成果をまとめた章であり、以下で示す 3 つの主要な成果が示されている。E22G 変異をもつ A β 40 は多種類のモルフォロジー (形態) を持つ線維を形成する傾向があり、均一な構造をもつアミロイド線維を作成することは不可能であった。この系に対し、高純度の E22G A β 40 モノマーを作成した上で、線維化の条件を最適化することで構造解析に適した均一な形態を持つ E22G A β 40 線維が作成可能であることが本研究で示された。先行研究と異なり震盪を加えない静置状態でインキュベートすることで、比較的長い強くねじれた線維と複数の線維が束になったねじれない線維の 2 種類の線維が得られた。この線維をホモジナイザーで断片化し、E22G A β 40 モノマーに重量比で 10%程度シードとして混ぜてインキュベートするとねじれた線維の割合が増加した。このシーディングを 4~5 回繰り返すことで、均一なねじれた形態を持つ E22G A β 40 線維が得られ、固体 NMR の解析でほぼ均一な分子構造を持つことが示唆された。

強くねじれた均一な形態を持つ線維は cryoEM による構造解析に最適なため、共同研究者と構造解析をおこなったところ、4 層の β シートを持つ初期構造が 2.5 Å という高分解能で得られた。内側の 2 層は 12 残基から 40 残基が β シートが W 字型に配置された独自のフォールドを持っている。外層は 27 残基から 36 残基の短い β シートで、その他の残基は運動性のためか観測されなかった。同じ試料を ^{13}C 固体 NMR で構造解析したところ、内層の W 字型構造は cryoEM とよく合う ^{13}C - ^{13}C の近接パターンが得られ、構造から計算された ^{13}C シフトも固体 NMR の測定値と一致した。他方で、外層の構造から計算された ^{13}C シフトは固体 NMR と一致せず、外層の β シートは存在するが、cryoEM の外層構造は間違いである可能性が高いことが示唆された。cryoEM と固体 NMR の統合解析の結果として、信頼性の高い内層の W 字型構造を最終構造として決定した。これまでにない A β 線維の新しい構造モチーフである点と、この線維が以下に示すように E22G 変異が引き起こす家族性 AD の分子病理をよく再現しているという点で価値が高い。

E22G 変異を持つ AD 患者では通常の人老人斑ではなく、綿花状老人斑という A β 40 の含有量が多い直径 200 μm の巨大な老人斑が生成する。中心部には A β 40 の線維が薄く分布し、その周りを A β 42 線維が取り巻いているが、どのようにこの綿花状老人斑が形成されるかは理解がなかった。本研究で得られた W 字型構造を持つ E22G A β 40 線維は分散性が高く、ThT 蛍光が低いなど綿花状老人斑の中心部で報告された特異な特徴をよく再現することが示された。さらに、E22G と野生型(WT) に対して A β 42 と A β 40 の線維形成速度を比較したところ、E22G A β 40 が WT/E22G A β 42 よりも早く線維形成することが示された。通常の人 AD と異なり A β 42 ではなく、E22G A β 40 が家族性 AD の発症を引き起こし得ることを示す興味深い成果である。3 章の内容を含む論文は *Nature Communications* にアクセプトされ、近日中に出版される予定である。

第 4 章 “SSNMR reveals that E22G confers plasticity to A β 40 to acquire WT A β 42 fibrillar structure..”では cryoEM での構造解析が難しい束になったねじれない E22G A β 40 線維に対して固体 NMR で構造解析を行なった結果である。予備的な結果であるが WT A β 42 線維に近い構造が得られており、研究の先端性は評価できる。

以上を要するに、幅広く研究が行われているが構造がほとんど知られていない E22G A β 40 線維に関して、2 例の新規構造モチーフを示した。合成した線維で AD の分子病理を再現する研究も進めており、併せて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。