

非対称フローFFFとUV-MALS-DLSによる タウタンパク質凝集体の評価

一般情報

ID0052

アプリケーション：タンパク質、医薬

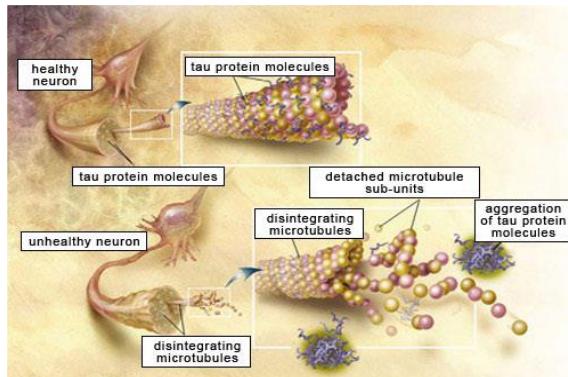
テクノロジー：AF4-UV-MALS-DLS

機器構成：AF2000 MT、PN3211 UV、PN3621 MALS、PN3700 DLS

キーワード：非対称フローFFF、MALS、タンパク質、原線維、アグリゲーション、アルツハイマー病

はじめに

アルツハイマー病はいくつかの生物学的機能障害による変性脳障害です[1]。その中でも神経原線維変化型およびアミロイド斑の主に2種の病変が発見され、広く研究されています。これら2種の病変は、それぞれベータアミロイドペプチドとタウタンパク質の2つのタンパク質の凝集と蓄積によって引き起こされます。タウタンパク質とそのフィブリル凝集体の特性評価は、アルツハイマー病の解明に重要であり研究の焦点です。



出典：国立衛生研究所(米 NIH)

測定詳細と結果

このアプリケーションでは、タウタンパク質サンプルをUV / Vis、MALS、およびDLSと組み合わせた非対称フローFFF(AF4)によって、タンパク質モノマーの評価、タンパク質フィブリル凝集体、および超音波処理後のタンパク質フィブリル凝集体の分析と評価を行いました。凝集体はヘパリンをタウモノマーに添加して凝集を誘導することにより形成されました。溶液は、20 mM MES、100 mM NaClで、NaOHでpH 6.8に調整しました。

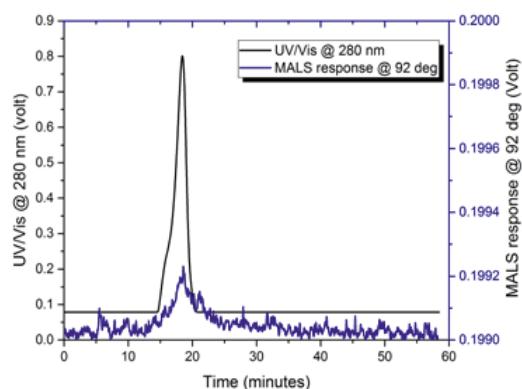


図1：タウタンパク質モノマーのAF4-UV-MALS分析

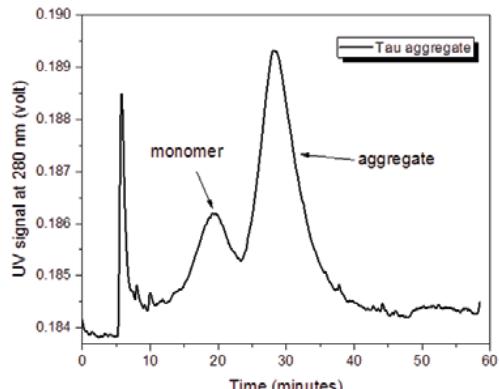
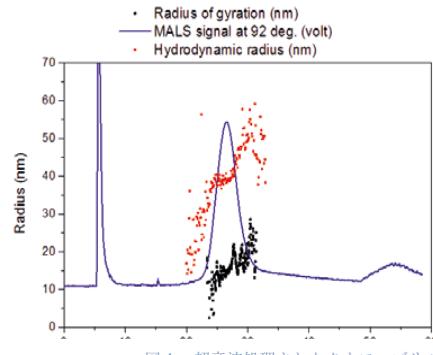
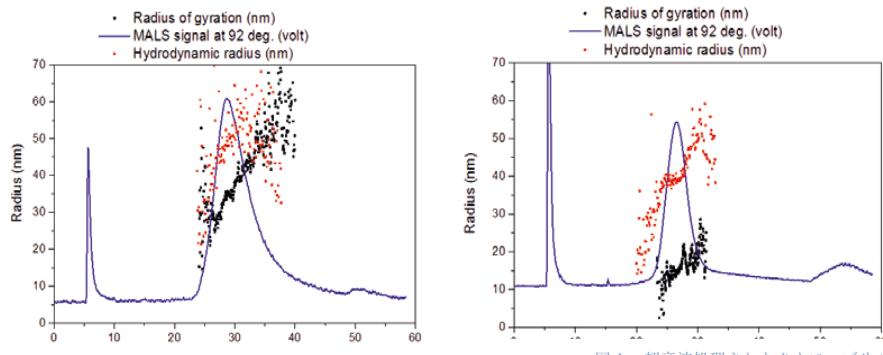


図2：タウ凝集体のAF4-UVフラクトグラム（超音波処理なし）

タウタンパク質モノマーはAF4-UV-MALSで分析しましたが、低濃度によりMALSで分子量を測定できませんでした（図1）。モノマーの保持時間は約18分で、タウ凝集体でも観察されました（図2）。これは、凝集したサンプルにまだモノマーが残存していることを示しています。



凝集体サンプルの平均慣性半径(R_g)は～35 nm、平均流体力学半径(R_h)は～50 nmでしたが、超音波処理された凝集体の平均慣性半径(R_g)は～15 nm、平均流体力学半径(R_h)は～40 nmでした。平均慣性半径(R_g)が大幅に減少し、平均流体力学半径(R_h)の減少幅が小さいのは、超音波処理により長いフィブリル凝集体をより短い断片に剪断している可能性が高いです。超音波処理された凝集体(ピーク最大値26.6分)と超音波処理されていない凝集体(ピーク最大値28.2分)では、わずかに異なる溶出時間が観察され、これらはMALSによって測定されたサイズ変化と一致しています。

まとめ

タウタンパク質とその凝集体はAF4-UV-MALS-DLSによって特性評価を行いました。タウ凝集体は二峰性分布を示し、モノマーと凝集体の両方がサンプルに存在することを示しています。これはAF4とMALSがタウタンパク質モノマーとその凝集体のサイズ分布を特徴付ける能力を示しており、アルツハイマー研究において重要な領域となります。

参考文献

- [1] Jouanne M., Rault S., Voisin-Chiret A.-S., European Journal of Medicinal Chemistry, 2017, 139, 153-167.