

藤井正明

東京工業大学 化学生命科学研究所

神奈川県横浜市緑区長津田町 4259

mfujii@res.titech.ac.jp



冷却イオン分光による天然変性タンパク質-低分子リガンド複合体へのボトムアップアプローチ

生理条件下で固有の立体構造を形成しないタンパク質を天然変性タンパク質 (IDP) は、多様な分子と結合することによって多くの生体内プロセスに関与している。そのため IDP は凝集しやすく、神経変性疾患の多くは原因 IDP の凝集との関連が指摘されている。原因 IDP の低分子凝集阻害剤が発見されているが[1]、その複合体の構造揺らぎが大きいため XRD、NMR などの適用が困難で、作用機序の理解につながる結合様式が未解明である。私たちは、この問題に対して、結合部位を切り出したペプチドと低分子リガンドとの複合体の構造をエレクトロスプレー (ESI)・冷却イオントラップ法とレーザー分光法を組み合わせた冷却イオン分光法により調べるボトムアップアプローチ[2]を適用することを着想した。本研究では、パーキンソン病原因タンパク質である α シヌクレインとその低分子凝集阻害剤であるドーパミンに着目した。 α シヌクレインのドーパミン結合モチーフである $^{125}\text{YEMPS}^{129}$ の両末端を保護した Ac-YEMPS-NHMe (以降 YEMPS: 図 1 a) が、ドーパミン (Dp: 図 1 b) との結合によりどのような二次構造をとるかを明らかにする事を目的とした。

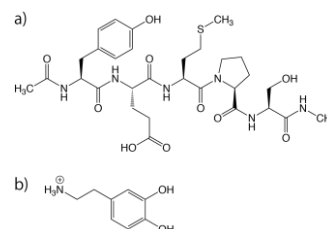


図 1 a) YEMPS 及び b) プロトン化ドーパミン

ドーパミンはアミノ基をもち、生理条件下ではプロトン化されている (DpH^+)。 DpH^+ と YEMPS の複合体を ESI 法により生成し、真空中に導入した。これを冷却イオントラップで捕捉・冷却した。ここに水素ガスを導入し、複合体の H_2 クラスターを生成した。赤外レーザーを照射・波長掃引し、赤外励起により H_2 が解離することを利用して赤外吸収を検出した (赤外光解離 (IRPD) 分光法)。過去の研究によれば YEMPS モチーフは DpH^+ のカテコール部分と結合することが示唆されている[3]。プロトン化アミノ基とペプチドの相互作用を排除するために、プロトン化アミノ基を 18-crown-6-ether (CE) で包接保護した。YEMPS- (DpH^+ -CE) のアミド-I 領域の IRPD スペクトルを測定し、YEMPS の二次構造を調べた。結果の詳細は講演にて議論する。

参考文献 1) R. Cuchillo, et al., *Biochem. Soc. Trans.* **40**, 1004 (2012)., 2) T. Sekiguchi, et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **57**, 5626 (2018)., 3) F. E. Herrera, et al., *PLoS One.* **3**, e3394 (2008).