

提出日: 2022 年 5 月 2 日

2021 年度 Bio-SPM 技術共同研究事業

研究成果の概要

実験課題名		FM-AFM を用いた神経毒性型アミロイドとアプタマーの相互作用に関する研究	
申請者 (実験責任者)	氏名	高木 昌宏	
	所属機関名・部局名	北陸先端科学技術大学院大学	
	職名	教授	
利用した Bio-SPM 技術 (該当の技術の右欄に○)		○	超解像 AFM(FM-AFM 及び、3D-AFM)
			高速 AFM
			SICM
NanoLSI 受入担当教員名		福間剛士	
<p>【背景と目的】 核酸アプタマーは、従来の抗体のような大きなサイズのものではなく、Aβ2 のような小さなサイズの標的との結合相互作用を研究するのに有利なサイズである[3,4]。我々は、Aβ2 の変異体(E22 と E22P)に対して、競合的非 SELEX 法[2]により、新規かつ高選択的な DNA アプタマーを同定した。電気化学センサー、ゲル電気泳動、分子動力学シミュレーションなどの手法を用いて、アプタマーと Aβ2 の生体分子間相互作用を評価したところ、アプタマーは Aβ2 のアミロイド形成を抑制することが分かった。そこで、本研究の目的として、以下の 2 点を設定した。</p> <p>(1) Aβ2 の毒性と形成されるアミロイドの構造にどのような関係があるかを明らかにする。</p> <p>(2) アプタマーと Aβ2 の分子間相互作用を原子レベルで解明する。</p> <p>これらを通して、アミロイド凝集のメカニズムや毒性発現のメカニズムが明らかにする事を目的とした。</p> <p>【方法】 FM-AFM を用いて、生理的条件、酸性条件、それぞれに於いて非毒性型、毒性型のアミロイドの観察を行う。さらに、それぞれのアミロイドについて、ヤング率を測定する等の手法によって、アミロイドの剛直性を解析した。アミロイド形成過程に於いて、上述のアプタマーを共存させた場合のアミロイド構造変化を観察し、アプタマーのアミロイドとの相互作用、さらにはアミロイド線維伸長過程に対する影響を調べる。</p> <p>【結果・考察】 本研究で明らかになったのは、以下の 2 点である。</p> <p>(1) アルツハイマー病の原因である Aβ2 の非(弱)毒性型(E22)と毒性型(E22P)の形成する線維状構造(アミロイド)の特徴について[1]、非毒性型(E22)は、柔軟でしなやかな構造を持ち、一方の毒性型(E22P)は、剛直で硬い構造をしている事を明らかにした。</p> <p>(2) 我々が開発した新たな試験管内選択法である、SELCOS 法[2]を用いて、非毒性型(E22)、及び毒性型(E22P)に特異的に結合する DNA アプタマーについて、上述したアミロイドとの結合状態を観察した。しかし、この結果に関しては、再現性に問題があり、引き続き観察を継続する。</p>			

※本様式 3 は、“事業成果報告”として、ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限:2022 年 5 月 6 日(金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先:金沢大学 WPI-NanoLSI Bio-SPM 技術共同研究事業担当係 E-mail: Bio-spmscr_nano@ml.kanazawa-u.ac.jp