

22R-pm15

生細胞でのアミロイド前駆体蛋白質、C99 中間体の会合機構の解明

高坂 徹¹, 上山 和輝¹, ○矢野 義明¹, 松崎 勝巳¹ (¹京大院薬)

【目的】アミロイド前駆体蛋白質(APP)は、神経の可塑性や記憶に関わる一回膜貫通型タンパク質であり、 β セクレターゼによる切断を受けて中間体のC99を産生し、さらに γ セクレターゼにより切断されアルツハイマー病の原因とされるアミロイド β ペプチドを産生する。APPやC99は会合により切断制御を受けていると予想されるが、APPの生細胞膜での会合状態は不明な点が多い。本研究ではAPPやC99の会合駆動ドメイン・会合制御因子の解明、また切断プロセッシングとの関連の解明を目指して、発表者らが開発したコイルドコイルラベル法による蛍光標識と蛍光励起エネルギー移動(FRET)を用いた生細胞中での会合状態解析を行った。

【結果と考察】細胞膜に発現させたAPPは自己会合によるFRETシグナルを示し、見かけのFRET効率が蛍光ドナーモル分率に対し直線的に増加したことから、単量体と二量体の平衡状態にあると考えられた。APPの細胞内C末端欠損体では会合が消失したことから、C末端領域にはAPP会合を駆動する因子が存在する事が明らかになった。また、C99も細胞膜でFRETシグナルを示し自己会合している事がわかったが、APPとは対照的に、C末端領域を同様に欠損させても会合する事が明らかになった。これらの結果は、APPとC99の自己会合駆動因子が少なくとも一部異なる事を示しており、異なる会合機構でセクレターゼによる切断制御を受けている可能性を示唆している。