

新潟大学脳研究所  
「脳神経病理資源活用の疾患病態共同研究拠点」  
共同利用・共同研究報告書

## タウがポストシナプスタンパクの組織化に与える影響

研究代表者 佐野 俊春<sup>1)</sup>  
研究分担者 三國 貴康<sup>2)</sup>, 佐藤 大祐<sup>2)</sup>, 田中 元雅<sup>1)</sup>

- 1) 理化学研究所脳神経科学研究センタータンパク質構造疾患研究チーム  
2) 新潟大学脳研究所細胞病態学分野

### 研究要旨

アルツハイマー病における認知機能障害の原因の一つとしてタウによるシナプス障害が考えられている。タウやポストシナプス関連タンパクはいずれも液液相分離を引き起こすため、液液相分離現象に注目し、これらの関係を調べた。in vitro において、タウはシナプス後肥厚 (PSD) のタンパクとともに液滴を形成するが、タウと PSD タンパクとの相互作用は液滴形成には影響を与えないと考えられた。この結果は異なるタウのアイソフォームにおいても同様だと考えられた。また、二光子顕微鏡を用いた蛍光寿命イメージングは液滴形成の検出に有用である可能性が示唆された。

### A. 研究目的

アルツハイマー病における認知機能障害の原因の一つとしてタウによるシナプス障害が考えられているが、そのメカニズムに関しては不明な点が多い。タウやポストシナプス関連タンパクはいずれも液液相分離を引き起こすことから、本研究課題ではポストシナプスにおける液液相分離のタウによる攪乱がシナプス障害に寄与しているとの仮説を立て、タウやポストシナプス関連分子の細胞内分布・動態を明らかにし、タウによるシナプス障害の分子機序解明へ繋げる。

### B. 研究方法

タウやポストシナプス関連タンパクである Stargazin や GluN2B の切断体や PSD-95 を大腸菌で発現後に、ゲル濾過クロマトグラフィーやイオン交換クロマトグラフィーを用いて精製した。細胞において多量体化しているタンパク質に関しては多量体化した蛍光タンパク質と融合させた。タウの液液相分離は PEG-8000 を添加することで誘導した。液滴形成やタンパク質の局在は共焦点

顕微鏡による観察で確認した。液滴形成を定量的に評価するためには、遠心分離による sedimentation assay を用いた。液滴内におけるタウの二次構造を評価するために、フーリエ変換赤外分光法 (FT-IR) を用いた。また、タウや PSD-95 を蛍光色素で標識し、二光子顕微鏡による蛍光寿命イメージングを用いて、in vitro での液液相分離現象に伴い分子間 FRET が検出できるかを検討した。

### C. 研究結果

PEG-8000 によるタウの液液相分離の誘導において、タウのアイソフォームや家族性変異の有無がタウの液滴形成に影響を与えた。タウは、Stargazin の C 末端と PSD-95 による液滴や GluN2B の C 末端と PSD-95 による液滴に共局在するが、これらの液滴の形成には影響は与えなかった。また、異なるアイソフォームを用いた場合も結果は同様だった。PEG により液滴形成を誘導したタウ溶液の IR スペクトルには、単量体状態のタウ溶液には見られないシグナルがアミド I 領域に観察

された。液滴形成を FRET で評価できるかどうか、二光子顕微鏡を用いた蛍光寿命イメージングで検討した結果、タウ同士の液滴形成や Stargazin の C 末端と PSD-95 による液滴形成時にドナー側の蛍光寿命の短縮が観測された。

#### D. 考察

PEG によって誘導されたタウのみの液滴形成において、アイソフォームによる影響が見られたのは、タウはアイソフォーム間で荷電分布が異なり、タウの液滴形成が主に静電相互作用によって駆動されていることを反映していると考えられる。タウのみによる液滴形成ではアイソフォームによる影響がみられたが、PSD タンパクの液滴には影響を与えず、アイソフォーム間で結果も同様だったことは、PSD タンパクの液滴においてはタウはクライアントに過ぎず、タウのみの液滴形成とは異なる相互作用によって液滴に局在しているからであると考えられる。FT-IR の結果は、タウは液滴形成時には単量体とは異なる二次構造を有することを示唆している。

蛍光寿命イメージングにおいてドナー側の蛍光寿命の短縮が起きたことは、液滴形成によるものと考えられるが、アクセプター側の漏れ込みの影響もあるため、さらなる検討が必要だと考えられる。

#### E. 結論

タウは PSD のタンパクとともに液滴を形成するが、タウと PSD タンパクとの相互作用は液滴形成には影響を与えないと考えられる。

#### F. 研究発表 (上記課題名に関するもの)

##### 1. 論文発表

該当なし

##### 2. 学会発表

1. Toshiharu Sano, Shingo Tamai, and Motomasa Tanaka.: "Effects of tau on phase separation in postsynaptic density", The 3rd Research Group Meeting on Cross-scale New Biology & International Conference, Awaji, September (2023)
2. Toshiharu Sano, Shingo Tamai, and Motomasa Tanaka.: "Effects of tau on

phase separation in postsynaptic density", The 2nd RIKEN CBS Co-Creation International Conference, Wako, October (2023)

#### G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

該当なし