

## アミロイド線維形成初期過程の制御

## Controlling of initial process of Amyloid fibrillation

筑波大物工 ○長谷川友里, 山田洋一, 佐々木正洋

Institute of Applied Physics, University of Tsukuba, Yuri Hasegawa, Yoichi Yamada, Masahiro Sasaki

E-mail:yurihase.2121@gmail.com

**諸言** タンパク質はある条件においてアミロイド線維と呼ばれる一次元構造を形成することが知られている。アミロイド線維はアルツハイマー等の神経変性疾患の原因とされている一方で、その安定性やワイヤー形状を機能性材料として利用しようとする研究が行われている。本研究ではアミロイド線維の形成機構と構造を理解し、その知見に基づきアミロイド線維の形状を制御する事を目的とする。アミロイド線維はいくつかの階層構造を有するが、本研究では特に、最も基礎的な構造を有するプロトフィブリルの形成過程を理解し制御することを目的とする。

本研究の第一段階(A)では、攪拌などのパラメーターをなるべく排した静置状態におき、ゆっくりとアミロイド線維を成長させる過程において、プロトフィブリル形成の初期過程を詳細に計測した。第二段階(B)では、成熟線維形成を阻害する事が知られているシステインを添加することで、プロトフィブリルのみを成長させることを試みた。

**実験** (A) 鶏卵白リゾチーム 2mg/mL を pH 2.0 の塩水溶液(NaCl 137mM、KCl 1.34mM)中で、50°Cにおいて静置してインキュベートした。線維形成は ThT 蛍光強度測定、及び原子間力顕微鏡を用いて観察した。

(B) (1)インキュベート前、(2)プロトフィブリル形成時、(3)プロトフィブリル会合時の各反応段階それぞれでシステイン 100mM を添加した場合の線維形態を、AFM により観察した。

**結果と考察** 図 1 に示すように、インキュベーション時間に伴う ThT 蛍光強度は、よく知られているシグモイド曲線を示した。AFM 観察や光散乱計測から、領域 1 のラグタイムにおいてアミロイド線維の前駆体であるプロトフィブリルが形成され伸長していることがわかった。また、蛍光強度の立ち上がり(領域 2)はプロトフィブリル同士の会合による成熟線維の形成に対応しており、インキュベートを続けると成熟線維の本数が増加することが分かった。領域 3 では線維形成は進まず、ゲル化が起こっていることがわかった。

実験(B)において、各領域においてシステインを添加したところ、いずれの場合も図 2 に示すようなリゾチームのアミロイド線維とは異なる線維の形成が確認された。このことは、システインの作用はリゾチームのモノマーに対するものであり、リゾチームはシステイン存在下では、アミロイド線維とは異なる線維状の凝集体を形成することがわかった。

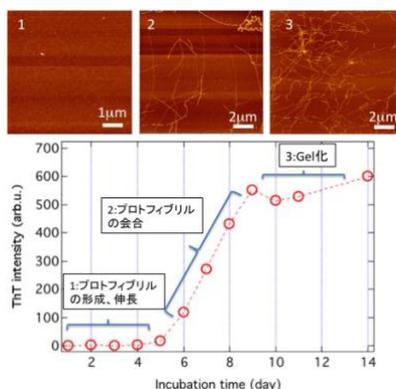


Fig.1 (left) ThT fluorescence and AFM images of Amyloid

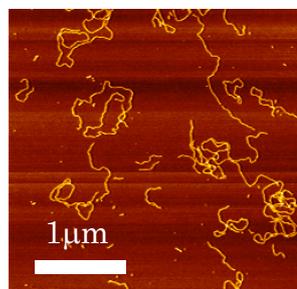


Fig.2(right) AFM image of condensed matter by cys addition

引用文献[1]Steven S.-S. Wang, et al.;BBA,2009,1663-1672