



Title	Direct observation of amyloid fibril growth
Author(s)	伴, 匡人
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45632
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	伴 と 人
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 19231 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科高分子科学専攻
学 位 論 文 名	Direct observation of amyloid fibril growth (アミロイド線維伸長の直接観察)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 後藤 祐児 (副査) 教授 青島 貞人 教授 則末 尚志

論文内容の要旨

生体内には、様々なタンパク質が存在し、個々のタンパク質の働きにより生命体は、その生命を維持している。タンパク質が独自の働きを持つには、そのアミノ酸配列に特異的な立体構造を構築する必要がある。タンパク質は複雑な折れたたみ過程を経て、個々の機能的立体構造を形成する。幾つかの疾病は、このようなタンパク質の折れたたみ反応が正常に進行しないために、引き起こされることが知られている。ある種のタンパク質は、その全体もしくは一部が重合して“アミロイド線維”という細線維を形成し、組織に障害をもたらすのである。

これらのアミロイド線維は、アルツハイマー病や狂牛病などの致死的な疾病と深く関連していると考えられているが、詳細な構造や形成機構は、明らかにされていない。アミロイド線維の直接伸長観察は、個々のアミロイド線維の伸長速度や伸長方向といった他の手法では得ることが困難な情報を容易に得ることができる。これらの直接観察から得られる情報は、アミロイド線維の形成・伸長機構の解明に重要である。これまでに我々は、全反射蛍光顕微鏡とアミロイド線維に特異的な蛍光色素を用いる新規の観察法を開発し、 β_2 -ミクログロブリンアミロイド線維の直接観察から、伸長速度を解析することに成功した。この観察系では、蛋白質単量体に特異的な蛍光修飾を行う必要がないので、他のアミロイド線維の観察にも広く応用できると考えられた。そこで、アルツハイマー病と深く関連するアミロイド β ($A\beta$) アミロイド線維の伸長観察と阻害反応を観察したところ、非常に鮮明な観察像を得ることができた。

近年の研究から、生体内に於いて、可溶性タンパク質の構造変換を促し、アミロイド線維の形成を引き起こす原因の一つとして、細胞膜表面との相互作用が注目されている。実際、リン脂質膜を用いた *in vitro* の研究では、前駆蛋白質と膜の相互作用により、アミロイド線維形成が促進することが報告されている。従って、表面相互作用が形成、伸長に与える影響を詳細に調べることは、アミロイド線維の形成を理解する上に、非常に重要である。表面相互作用が $A\beta(1-40)$ アミロイド線維の形成、伸長に与える影響を調べるために、化学修飾を施した石英スライドガラスを用いて、全反射蛍光顕微鏡により直接観察を行った。疎水性に富むスライドガラス上では、アミロイド線維の形成、伸長共に起こらなかった。これに対し、陰電荷を帯びたスライドガラス上では、アミロイド線維形成、伸長共に促進された。また陽電荷に帯びたスライドガラス上では、修飾に用いた化学物質によりアミロイド線維形成が影響を受けることが観察された。これらの観察結果から、アミロイド線維は、表面相互作用にのみならず、用いる化学種の特性にも大きく影響を受けることが明らかになった。また一部のスライドガラス上では、アミロイド線維が配向している

様子が観察されたので、表面相互作用は、アミロイド線維の形成機構の解明だけではなく、アミロイド線維の工学的利用にも大きな役割を果たすと考えられる。

論文審査の結果の要旨

本論文では、アミロイド線維の伸長過程を直接観測してその分子機構を解析した。アミロイド線維は、アルツハイマー病や狂牛病などの致死的な疾病と深く関連していると考えられているが、詳細な構造や形成機構は、明らかにされていない。本論文では、全反射蛍光顕微鏡とアミロイド線維に特異的な蛍光色素チオフラビンTを用いる新規の観察法を開発し、透析アミロイドーシスの原因となる β_2 ミクログロブリンのアミロイド線維と、アルツハイマー病に関わるアミロイド β ペプチドのアミロイド線維の伸長観察に成功し、その分子機構を示した。これにより、アミロイド線維の形成機構の理解を進展させた。本論文は、個々のアミロイド線維の伸長速度や伸長方向といった他の手法では得ることが困難な情報を得た独創的なものであり、関連分野に大きく貢献する優れた成果である。よって本論文は博士（理学）の学位論文として十分に価値あるものと認める。