The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Study on the amyloid fibril formation of a peptide fragment of b2-microglobulin
Author(s)	山口, 圭一
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46452
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　山口圭一（やまぐち　けいいち）

博士の専攻分野の名称　博　士（理　学）

学位記番号　第　20038　号

学位授与年月日　平成18年3月24日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

理学研究科生物科学専攻

学位論文名　Study on the amyloid fibril formation of a peptide fragment of β_2-microglobulin
（β2ミクログロブリンの部分ペプチドのアミロイド線維形成に関する研究）

論文審査委員　（主査）
教　授　後藤　祐児

（副査）
教　授　月原　冨武　　教　授　中村　春木

論文内容の要旨

アミロイド病は、アルツハイマー病やパーキンソン病、透析アミロイド病など約20種類が知られている。しかし、近年、病気とは関わりがない様々な蛋白質やペプチドが、適当な条件下でアミロイド線維を形成することが分かってきた。現在、アミロイド線維形成はポリペプチド鎖の基本的性質であると考えられている。よって、アミロイド線維形成機構の理解は、病気の治療だけでなく構造生物学的にも重要である。透析アミロイド病はβ2 ミクログロブリン（β2-m）のアミロイド線維が原因で引き起こされる疾患である。また、β2-m の Ser20-Lys41 からなる 22 残基のペプチド K3 は、*in vitro* で単独でアミロイド線維を形成する。よって、β2-m のアミロイド線維形成において、K3（Ser20-Lys41）領域は核になると考えられている。本研究では、アミロイド線維形成機構を理解するために K3 をモデルペプチドとして以下の実験を行った。

まず、β2-m の形態が異なる2種類のアミロイド線維と K3 の線維に対して重水素交換を行い、線維のコア構造について調べた。その結果、全長β2-m の剛直な線維では両末端を除く広範囲が線維形成に関与していた。一方、β2-m のフレキシブルな線維では線維形成に関与している領域は狭く限られていた。よって、線維のコア領域の違いにより、線維の形態は変化したと考えられる。また、K3 のアミロイド線維では、ペプチド全体が交換から保護されていた。フレキシブルな領域が削除され、ペプチド全体が強固な水素結合ネットワークを形成していると考えられる。

次に、アミロイド線維形成におけるアルコール効果について調べた。近年、トリフルオロエタノール（TFE）などのアルコールがアミロイド線維形成を促進するという報告が多数されている。その際、アルコール中で形成するαヘリックス構造や天然構造の部分的変性が重要であると考えられている。しかし、アミロイド線維形成におけるアルコールの分子機構については十分に理解されていない。K3 ペプチドを用いて、TFE やヘキサフルオロイソプロパノール（HFIP）などのアルコール溶液中でアミロイド線維形成について調べた。その結果、アミロイド線維形成はアルコールのクラスター化濃度よりやや低濃度側で起こることが分かった。TFE や HFIP などのアルコール分子はある濃度で動的クラスターを形成することが知られている。アルコールのクラスター化によりペプチド周辺は疎水的になる。その結果、水素結合形成が促進され、アミロイド線維が形成されると考えられる。

続いて、K3 ペプチドを用いて、アミロイド線維の伝播について調べた。アミロイド線維形成は円二色性を用いて

調べた。その結果、K3ペプチドは同一条件下で、二次構造が異なる２種類のアミロイド線維（f218とf210）を形成することが分かった。この２種類の線維を用いて、シーディングによるアミロイド線維の伝播実験を行った。その結果、シーディング一度目では、シードと同じ構造と形態をもつアミロイド線維が再び形成された。しかし、f218によるシーディングをさらに繰り返すと、f218は徐々にf210に変化することが分かった。このようにアミロイド線維の構造的特徴は鋳型であるシードによって伝播するが、シーディングを繰り返すと、その環境に適した線維へ変化していくと考えられる。アミロイド病における線維の伝播と適応モデルを提案した。

論文審査の結果の要旨

アミロイド線維の沈着を伴うアミロイド病は、アルツハイマー病をはじめ約20種類が知られており、アミロイド線維の形成機構を理解することは重要である。透析アミロイドーシスはβ2ミクログロブリンのアミロイド線維沈着が原因となって発症する。22アミノ酸残基からなるβ2ミクログロブリンのペプチドフラグメントK3は単独でアミロイド線維を形成し、β2ミクログロブリンのアミロイド線維の核になると考えられている。本研究では、ペプチドフラグメントK3を用いて、アミロイド線維の形成機構、構造安定性を研究した。

その結果、β2ミクログロブリンのアミロイド線維の中で、実際にK3領域が核となっていることを、重水素交換実験によって明らかにした。次に、K3のアミロイド線維形成に対するアルコール効果を調べることにより、アルコール分子のクラスター化がアミロイド線維形成を促進することを明らかにした。また、シーディングによってK3のアミロイド線維構造が伝播すると共に、環境に適した線維へ変化していくことを明らかにした。

本論文は、アミロイド線維の構造物性の基本的特徴を、蛋白質の天然構造と比較して明らかにし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価値あるものと認める。