



Title	Study on the aggregation mechanism of $\beta 2$ -microglobulin focused on amyloid fibrils and amorphous aggregates
Author(s)	足立, 誠幸
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/69367
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (足 立 誠 幸)

論文題名

Study on the aggregation mechanism of β_2 -microglobulin
focused on amyloid fibrils and amorphous aggregates
(アミロイド線維とアモルファス凝集に着眼した
 β_2 ミクログロブリン凝集機構についての研究)

論文内容の要旨

【背景と目的】

近年、蛋白質の凝集は疾患の発症に関連することが発見されてきたことを背景に、凝集機構の解明を目指した研究が多く行われている。その数ある研究を通して凝集体には、秩序だった構造を持つアミロイド線維とアモルファス（不定形）凝集の主に2種類存在することが知られるようになった。しかし、形成過程における両者の関係性は不明瞭である。そこで本研究では、「透析アミロイドーシス」と呼ばれる疾患の原因となる β_2 ミクログロブリンを用いて、様々な条件下で凝集形成実験を行った。

【塩濃度に依存した競争的凝集形成機構】

まず、私は塩濃度に注目し、その濃度依存性を調べた結果、凝集が形成されない可溶領域、アミロイド線維のみが形成される領域、一過性のアモルファス凝集が形成された後、アミロイド線維が形成される領域、アモルファス凝集のみが形成される領域の4つに区分できることが分かった。これは、以前の研究で示唆されたように蛋白質の溶解度が鍵となり、結晶性を持つアミロイド線維とガラス性を持つアモルファス凝集の関係が存在することを強く支持するものであった。そして、両者の凝集体それぞれには析出するための臨界濃度が存在し、これら2種類間の凝集形態の変化は自由エネルギーのバランスによって競争的に起こされることを本研究で示した（図1）¹。

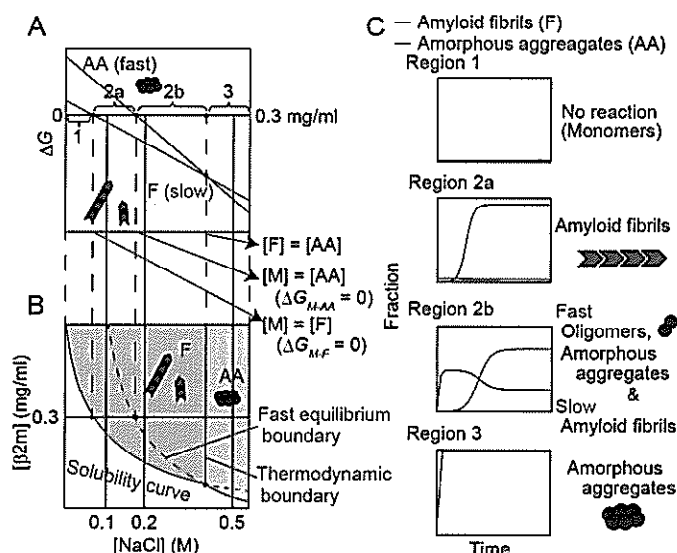


図1. 2種類の凝集体間の塩濃度に対する自由エネルギー変化と相図

A. アミロイド線維（青）とアモルファス凝集（赤）の自由エネルギー変化のNaCl濃度依存性
領域1：可溶領域
領域2a：アミロイド線維形成領域
領域2b：速度論的に形成されるアモルファス凝集と安定的に形成されるアミロイド線維
領域3：アモルファス凝集形成領域
B. 蛋白質濃度とNaCl濃度依存的な凝集形態変化についての相図
C. Aで示される各領域における凝集形成の経時変化

【競争的凝集形成機構に基づいた温度・塩濃度依存的な凝集形成への理解】

次に、私が注目した効果が温度である。一般的に、温度が上昇すると蛋白質の凝集形成が加速される。これは高温状態では蛋白質の変性が引き起こされ、疎水性相互作用が強まるためであると考えられている。アミロイド線維とアモルファス凝集の形成についても、蛋白質の変性が関与している。しかし、本研究において両者の凝集体はともに高温で解け、可溶状態までになりうることが示唆された。また、アミロイド形成能のある蛋白質についてのみかもしれないが、アモルファス凝集は温度上昇によってアミロイド線維へ転換することが新たに分かった。この現象は、温度と塩濃度を軸にした相図として表現可能であり、本研究により、温度に対しても競争的機構が適用できることを示した（図2）²。

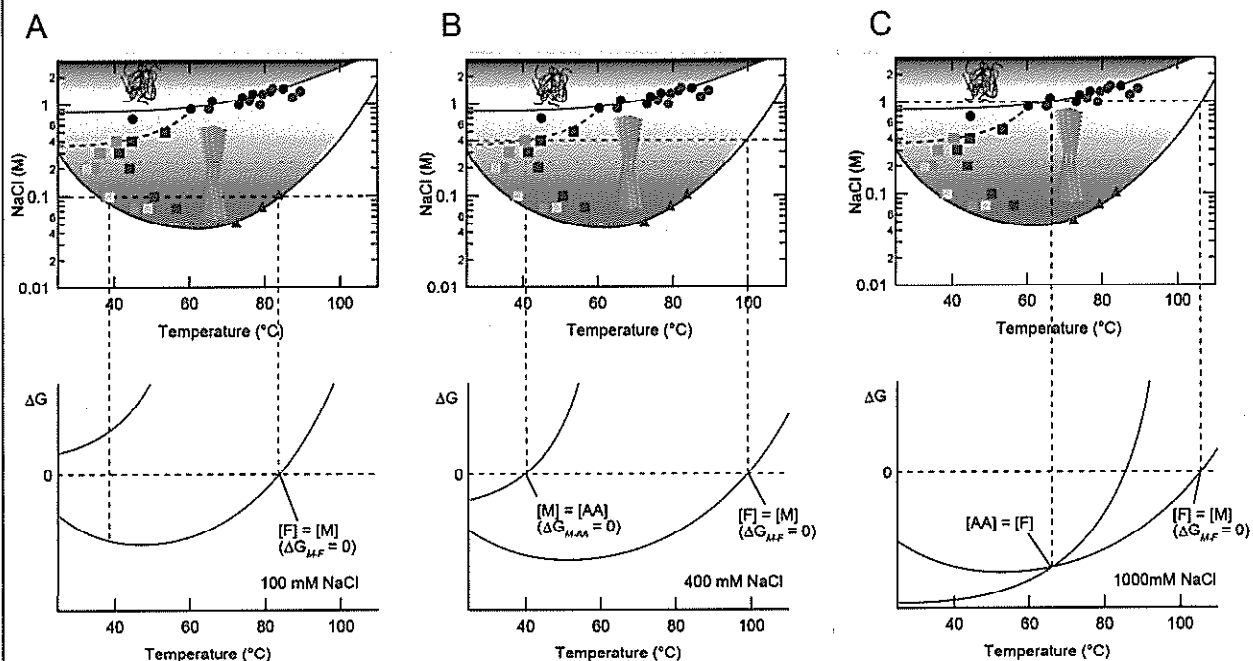


図2. 相図と温度についての自由エネルギー変化の関係性

(上図): 温度とNaCl濃度依存的な凝集形態変化についての相図、(下図): アミロイド線維 (青) とアモルファス凝集 (赤) の自由エネルギー変化の温度依存性

A. 100 mM NaCl、B. 400 mM NaCl、C. 1000 mM NaCl条件下での自由エネルギー変化

以上の結果から、アミロイド形成能を持つ蛋白質は同時にアモルファス凝集を形成する潜在性を持ち、両者の競争的に起こる機構が明らかとなった。このような機構の理解は、たとえばアミロイド線維のみが原因と考えられる疾患であっても、2種類の凝集体に目を向ける必要があることを示すだけでなく、疾患発症の根本的な原因を生物物理的に理解する手がかりとなるものである。

1. Adachi, M., So, M., Sakurai, K., Kardos, J., and Goto, Y.

Supersaturation-limited and Unlimited Phase Transitions Compete to Produce the Pathway Complexity in Amyloid Fibrillation.

The Journal of biological chemistry **290**, 18134-18145 (2015).

2. Adachi, M., So, M., Goto, Y.

Comprehensive Understanding of Heat- and Salt-dependent Protein Aggregation based on the Supersaturation-limited Competitive Mechanism.

In preparation

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (足 立 誠 幸)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	後 藤 祐 児
	副 査	教授	藤 原 敏 道
	副 査	教授	栗 栖 源 嗣
論文審査の結果の要旨			
近年、蛋白質の凝集は疾患の発症に関連することを背景に、凝集機構の解明を目指した研究が多く行われている。その結果、凝集体には、秩序だった構造を持つアミロイド線維とアモルファス（不定形）凝集の主に二種類の存在することが明らかとなっている。しかし、両者の関係性は不明である。そこで本論文では、透析アミロイドーシスの原因となる$\beta 2$ ミクログロブリンを用いて、様々な条件下で凝集形成実験を行い、二種類の凝集体の速度論的、熱力学的関係を研究した。 まず、塩濃度に注目し、凝集の塩濃度依存性を調べた。その結果、アミロイド線維とアモルファス凝集のそれぞれに析出の臨界濃度が存在し、二種類の凝集体の変化は、自由エネルギーのバランスによって競争的に起こされることを示した。次に、温度の効果に注目し、温度に対してもアミロイド線維とアモルファス凝集が競争的に形成されることを示した。特に、特定の条件においてアモルファス凝集は温度上昇によってアミロイド線維へ転換することを見出した。以上を塩濃度と温度を軸にした凝集の相図としてまとめた。 本論文は蛋白質凝集の分子機構の原理的理解を生物物理的、蛋白質科学的に深めるものであり、疾患に関連する研究分野の進展にも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。			