

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	徳永雄平
題 目	リゾチーム及び好塩性タンパク質を用いたアミロイド線維形成機構の解明 (Studies on the mechanisms of amyloid fibril formation of lysozyme and a halophilic protein)
<p>アミロイド線維は、タンパク質の規則的な超分子重合体でありタンパク質が変性やミスフォールディングすることによって会合、凝集し形成される。構造的な特徴として、クロスβシート構造をとり、アルツハイマー病などアミロイドーシスと総称される様々な疾患に関わっている。ヒトリゾチームの場合、四つの遺伝子変異(I56T, F57I, D67H, W64R)によってアミロイドーシスをひきおこすことが報告されている。一方、アミロイド線維形成モデルタンパク質として卵白リゾチーム(HEWL)がよく研究されており、線維形成には分子構造内の特定領域の関与が示唆されている。また、最近の研究では、細菌や真菌類などが自然界においてアミロイド線維を形成することが報告され、機能性のアミロイド線維が注目されている。</p> <p>本研究は、HEWLを用いてアミロイド線維形成のメカニズムを明らかにするため、HEWLにおける線維形成領域の同定およびコア領域の線維形成条件を検討し、アミロイド線維形成に伴うアミノ酸残基の動向についても追究した。さらに、部分変性したHEWLが高い凝集性を示すことから、タンパク質の凝集性とアミロイド線維形成の関係を明らかにするために、可溶性の高い好塩性タンパク質(His-rich protein: HP)を用いて、アミロイド線維形成条件を検討し、HEWLのアミロイド線維形成機構と比較した。</p> <p>HEWLと卵白オボアルブミンの相互作用の研究にて分離されたHEWL由来のKペプチド(54G-62W)は、pH4, 37°Cにおいてアミロイド線維を形成した。Kペプチドは、すでに報告されているHEWLのアミロイド形成領域53-100残基に含まれ、そのコア領域と考えられた。次に、Kペプチドの変異体を合成し、線維形成条件とアミロイド線維形成に重要なアミノ酸残基を調べた。Kペプチドのトリプトファン残基を欠損あるいは置換させた場合、線維形成されなかった。これは、62Trpがアミロイド線維形成には、重要であることを示しており、62Trpがaromatic stackingすることによってアミロイド線維が形成されている可能性が示唆された。またKペプチドによる線維形成は、表面疎水性の上昇と関係しており、C-末端側のトリプトファンは、分子内部に位置すると推定された。さらにヒトリゾチームにおいては、これまで76残基からなるペプチド領域がアミロイド線維形成に重要であることが報告されていたが、HEWLで同定した9個のアミノ酸からなるK peptideと同様の相同性領域のpeptideでアミロイド線維を形成したことから、この領域がアミロイド線維形成に深くかかわっていると推察された。</p> <p>また好塩性タンパク質であるHis-HPは高温・酸性及びTFE添加中性条件下で容易に線維化することがわかった。また超遠心を用いた検討によりHis-HPは、酸性・中性両条件下でHEWLとは異なり線維形成時に非特異的な凝集体を形成しにくいということがわかった。His-HPは、可溶性が高く多量のマイナス電荷を持つタンパク質なのでタンパク質分子間の不可逆的な相互作用の頻度が低く、様々な種類の凝集体を作る核を形成しにくいためと考えられた。</p>	