4P048

アミロイド結合性を有するコンゴーレッドの会合体形成メカニズムの検討

（東京理科大・薬 [1], 国際医療福祉大学・薬 [2]）○飯島 羽 [1]、和田 崇 [1]、大黒 桃子 [1]、
岡山 有稀子 [2]、島田 洋輔 [1]、後藤 了 [1,2]

Study of associative mechanism of Congo Red with the amyloid-binding

(Tokyo University of Science[1], International University of Health and Welfare[2]) ○Tsubasa Iijima[1],
Takashi Wada[1], Momoko Daikoku[1], Yukiko Okayama[2], Yohsuke Shimada[1], Satoru Goto[1,2]

【背景・目的】

アルツハイマー病をはじめとするアミロイドーシスはアミロイドの凝集がその発現に大きく関与すると考えられているが、その凝集のきっかけについては詳細が明らかになっていない。アゾ色素の一種であるコンゴーレッド（CR）はアルツハイマー病の原因と考えられているアミロイドベータに特異的に結合し、その凝集を抑制することが知られている [1]。また、CR はアミロイドと同様に単独で会合体を形成する性質を持つ [2]。そこで我々は、CR とアミロイドの自己会合メカニズムに類似性があると仮定し、CR の会合体形成メカニズムを解明することによってアミロイドーシスに関する病理学的知見を得ることができると考えた。本研究では、CR の水溶液中での溶存状態および会合体形成のメカニズムについて検討を行った。

【実験】

＜pH による紫外可視吸光スペクトルの変化＞ イオン強度 I = 0.35 における種々の pH (pH 1.9～12.2）での 24 μM の CR 溶液の紫外可視吸光スペクトルを測定した。各サンプルの pH は広域緩衝液（0.02 M）を用い、イオン強度は NaCl を用いて調整した。

＜紫外可視吸光スペクトルの経時変化＞ イオン強度 I = 0.35 における種々の pH (pH 3, 4, 5, 6）での 24 μM の CR 溶液の調製直後（10 min）および 2, 4, 6, 8, 10, 12 時間後における紫外可視吸光スペクトルを測定した。各サンプルの pH はクエン酸緩衝液（0.1 M）を用い、イオン強度は NaCl を用いて調整した。

【結果と考察】

Fig. 1 に pH 1.9～12.2 における CR の紫外可視吸光スペクトルを示した。Fig. 1 からは多くの pH 指示薬に見られる等吸収点が見られなかった。これは、会合体形成による三成分目の構造が水溶液中に溶存していることが示唆された。

次に Fig. 1 のスペクトルデータを用いて、特異値分解法による解析を行った。その結果、三成分の単独スペクトルが分離された。さらに p*K*a = 4.9

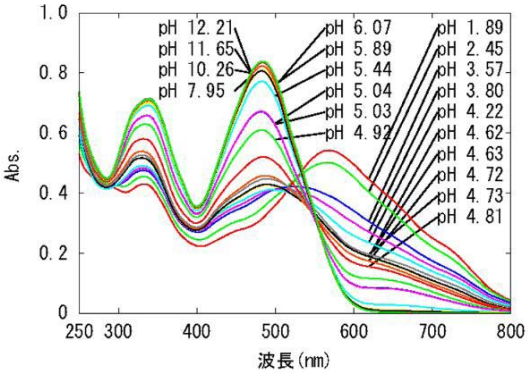

Fig. 1. pH 1.9～12.2 における CR の UV-Vis スペクトル

であることも明らかになった（Fig. 2）。

Fig. 3 には各 pH における紫外可視吸光スペクトルの経時変化を示した。すべての pH において時間経過とともに吸光度の低下が見られた。これは難溶性の凝集体を形成、沈殿したことによるものと考えられる。さらに、p*K*a よりも酸性側の pH 3 (a)、pH 4 (b) の条件および塩基性側の pH 6 (d) の条件では、スペクトルの形状は変化しなかったのに対し、p*K*a 付近である pH 5 (c) の条件ではサンプル調製から 2 時間後にスペクトルの形状が変化した。変化したスペクトルは Fig 1 では確認されないものであった。この結果から p*K*a 付近の pH では酸解離によって生じる二つの構造からなるヘテロ二量体の形成を予想した。つまり、水溶液中で水溶性の二量体を形成し、その後二量体同士が集まって難溶性の凝集体を形成すると考えた。

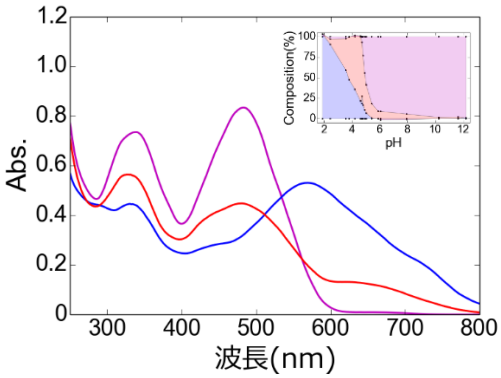

Fig. 2. 特異値分解によるスペクトル解析

以上の結果から、CR 溶液中には酸解離によって生じる単分子のアニオン型および両性イオン型とそれらが会合して形成される二量体の三成分が溶存していると考えられた。単量体から二量体となり、その後凝集体が形成されると仮定すると、pH によって凝集速度が異なることから静電的反発の強さが二量体および凝集体形成に関与していることが示唆された。

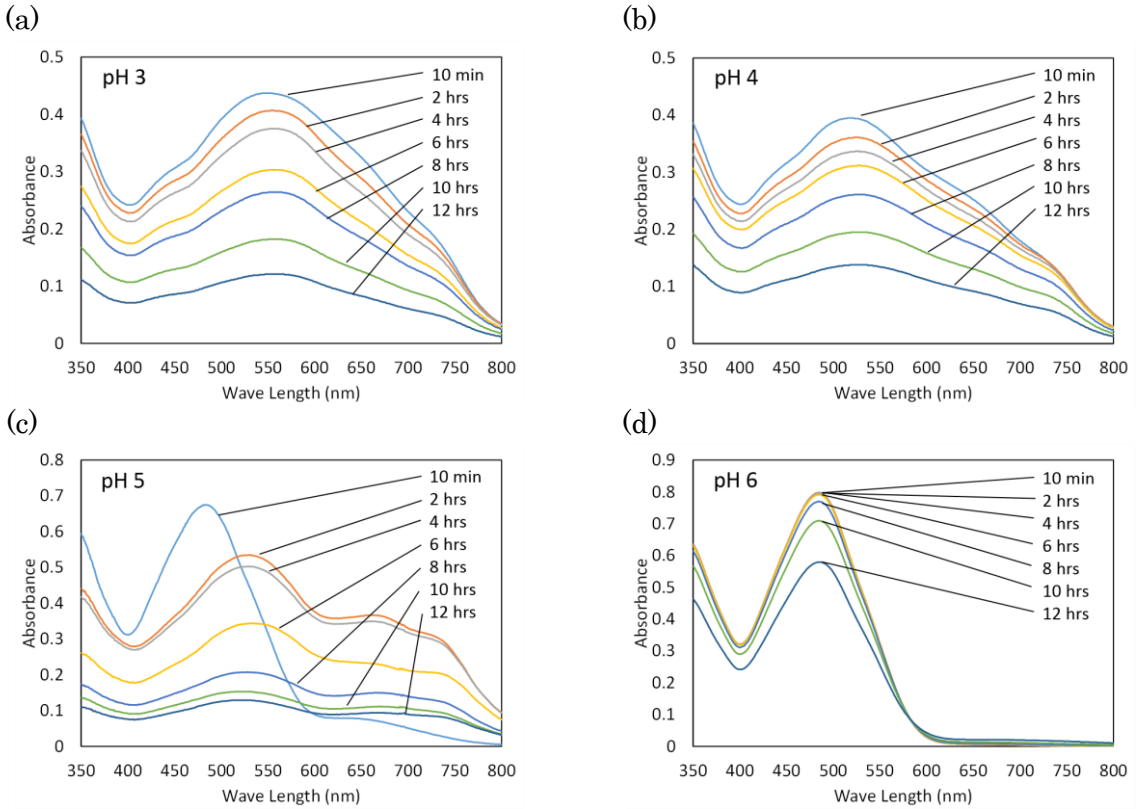

Fig. 3. 各 pH におけるスペクトルの経時変化（I = 0.35）

【参考文献】

1. Lorenzo. A., Yankner B.A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1994**, *91*, 12243-12247.

2. Skowronek. M, et al, *Biopolymers*, **1998**, *46*, 267-281.