3C14

コンゴーレッドの荷電に対応する凝集機構の解明

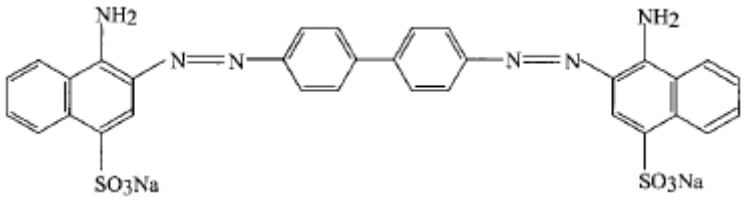
（東京理大薬[1]，東京理大薬 DDS 研セ[2]，東京理大総研[3]）
○和田 崇[1]，飯島 羽[1]，遅沢 周亮[1]，南 賀子[1]，島田 洋輔[1-3]，後藤 了[1-3]

The aggregation mechanism of Congo Red corresponding to the electric charge

○Takashi Wada [1], Tsubasa Iijima [1], Syusuke Osozawa [1], Yoshiko Minami [1], Yohsuke Shimada [1-3], Satoru Goto [1-3]
(Fac. Pharm. Sci., Tokyo Univ. Sci.[1], Center for Drug Delivery Res., Fac. Pharm. Sci., Tokyo Univ. Sci.[2], Res. Inst. Sci. Tech., Tokyo Univ. Sci.[3])

［背景］アルツハイマー型認知症やプリオン病、ハンチントン病等の多くのアミロイド関連疾患は、タンパク質の自己組織的な凝集により、アミロイドが形成されて誘発される。タンパク質の凝集は重大な生化学的、生理学的および臨床的意義を持っている。アミロイド繊維化プロセスの初期段階には、オリゴマーやプロトフィブリルのようないくつかのより小さな凝集があると考えられた。しかし、これらがどのように堅いクロスβ構造であるアミロイド・フィブリルの形成の一因となるかについてはほとんど何もわかっていない。アミロイド繊維を特異的に染色するコンゴーレッド（CR）はアミロイド繊維形成の阻害作用を持ち、水溶液中で自己組織的に凝集・会合すると考えられている。我々は両者の凝集機構に類似性があると仮定し、そこで生体内環境のモデルとして、油/水界面における CR の自己組織化のメカニズムを詳細に検討した。

Fig.1 CR の構造式



［実験］様々な pH やイオン強度(I)の緩衝液中における CR を水緩衝液/1 - オクタノール分配し、吸光度及びスペクトルを測定した。I 調節には NaCl 溶液を用いた。またインスリンについても同様に、pH や I を調節し加熱処理前後の蛍光強度を測定した。

［結果・考察］CR の分配は濃度依存的ではないことが分かった。pH 7.0 以上では I による分配係数の変化がほとんど見られず、また CR の p*K*a=4.9 であることから、I の影響を大きく受けるのは両性イオン型であると考えられる。pH 6.0 以上では、I≦0.17 でのみエマルションが観察された。CR の p*K*a=4.9 付近の pH では、両性イオン型とアニオン型の CR の二量体が凝集して、紫色になったと考えられる。pH 3.0 以下では、両性イオン型の CR の二量体が凝集して青色になったのに対し、pH 7.0 以上では、アニオン型と水のエマルションが形成されたと考えられる (Fig.2)。pH や I の条件によって CR の自己組織化を防ぐことが確認できた。

インスリンは酸性条件下で加熱処理すると容易に繊維形成することが知られている。また、チオフラビン T(ThT)はアミロイド線維と結合すると 490 nm 付近に強い蛍光を発することが知られている。加熱処理したインスリン溶液において、pH 2.0 では I≦0.20 で ThT による蛍光強度が大きく増加している。pH 7.0 では I＝0.40 で ThT による蛍光強度が大きく増加している(Fig.3)。同様の条件下におけるカゼイン溶液では、加熱処理後の蛍光強度にあまり変化は見られなかった。これらの実験結果から、溶液中やタンパク質自身の荷電を変化させることで、アミロイド形成に影響を与える可能性が示唆された。

Fig.2 CR の油/水分配

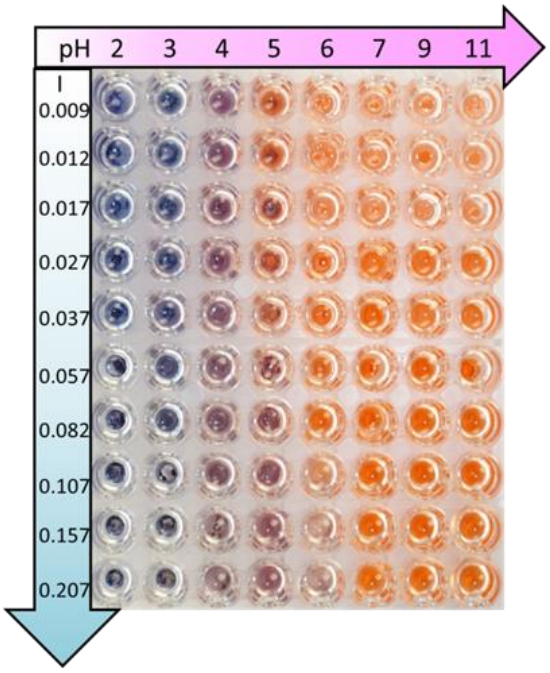
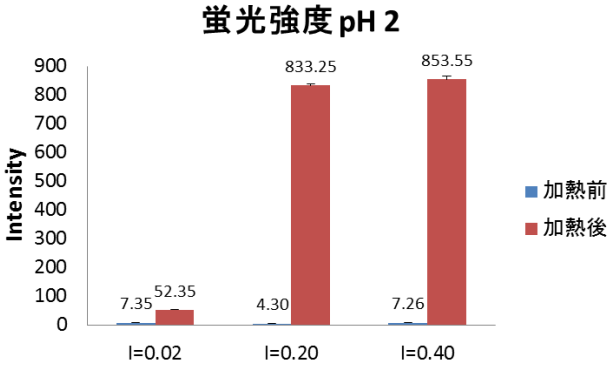
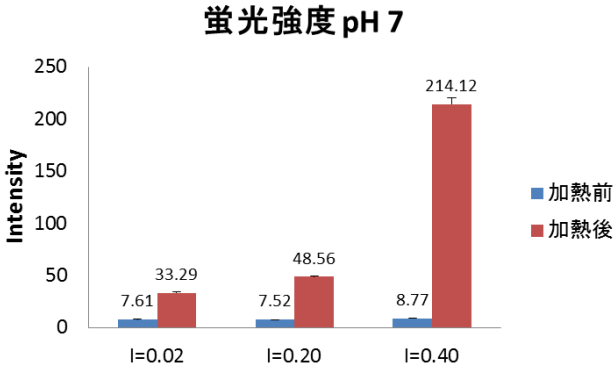



Fig.3 インスリンの蛍光強度