

## ジャイロトロン照射によるアミロイド線維の構造変換

## Structural Conversion of Amyloid Fibrils by Gyrotron Irradiation

川崎 平康<sup>a</sup>, 山口 裕資<sup>b</sup>, 石川 裕也<sup>b</sup>, 出原 敏孝<sup>b</sup>, 家路 豊成<sup>c</sup>, 太田 俊明<sup>c</sup>, 築山 光一<sup>a</sup>  
Takayasu Kawasaki<sup>a</sup>, Yuusuke Yamaguchi<sup>b</sup>, Yuya Ishikawa<sup>b</sup>, Toshitaka Idehara<sup>b</sup>, Toyonari Yaji<sup>c</sup>,  
Toshiaki Ohta<sup>c</sup>, Koichi Tsukiyama<sup>a</sup>

<sup>a</sup>東京理科大学赤外自由電子レーザー研究センター, <sup>b</sup>福井大学遠赤外領域開発研究センター,  
<sup>c</sup>立命館大学 SR センター

<sup>a</sup>IR-FEL Research Center, Tokyo University of Science, <sup>b</sup>Research Center for Development of Far-Infrared Region, University of Fukui, <sup>c</sup>The SR Center, Ritsumeikan University

e-mail: kawasaki@rs.tus.ac.jp

サブテラヘルツ領域でパルス発振する遠赤外線ジャイロトロンは、ハイパーサーミアと呼ばれる温熱作用によって癌に対する治療効果が認められている。しかし、生体物質特にタンパク質やペプチドに対する化学構造レベルでの照射効果に関しては不明な点が多い。本研究では、アミロイド線維に対する照射試験を行い、放射光赤外顕微鏡を用いてアミロイド線維の構造変化を解析した。その結果、照射によって $\beta$ -sheet 構造が増大して線維化が促進されることが示された。

Far-infrared radiation is often used for biological and medical application studies. Gyrotron is high-powered far-infrared electromagnetic wave, and it can be used for cancer therapy with hyperthermia effect. However, the molecular details of interaction of gyrotron with biological matters such as protein and peptide are not fully understood. In this study, gyrotron was tested to irradiate the amyloid fibril as a model, and SR-based infrared microscopy analysis coupled with protein secondary structure analysis showed that the  $\beta$ -sheet conformation in the peptide was increased by the irradiation.

**Keywords:** gyrotron, amyloid fibril,  $\beta$ -sheet, infrared microscopy

### 背景と研究目的

申請者はこれまで、中赤外波長域で発振する自由電子レーザー(FEL)を用いて生体物質を分解する研究を実施してきた。特にアミロイド線維と呼ばれるタンパク・ペプチド凝集体に対して FEL を照射し、放射光赤外顕微鏡 BL15 を用いて詳細に解析した結果、アミド結合の振動モード(Amide I)に相当する赤外波長(6-7  $\mu\text{m}$ )で FEL を照射することにより、アミロイド線維の凝集構造が解離し、モノメリックなペプチド鎖に変化することを見出した[1,2]。FEL による照射効果の背景にあるメカニズムとしては、アミロイド線維の構造を形成するペプチド主鎖のアミド結合が、FEL による強力な振動励起エネルギーの供与によって励起し、アミド結合間で形成されている水素結合のネットワークが崩壊することにより、凝集構造が解離に至るという機構が考えられる。本研究では、生体内への透過性や水素結合を多く含む水への吸収力の点で中赤外光よりも優れている遠赤外線の効果を明らかにする目的で、アミロイド線維に対するジャイロトロンの照射実験を行った。ジャイロトロンは、サブテラヘルツ領域(数十～数百ギガヘルツ)で発振しハイパーサーミア効果によって癌の治療効果が確認されている。しかしタンパク質やペプチドなどの生体物質に対する分子レベルでの影響に関してはあまり研究されていない。

### 実験

東京理科大学においてアミロイド試料を調整した後、福井大学に試料を持参し、ジャイロトロンによる照射実験を実施した。照射条件は以下のとおりである。

照射パラメーター：周波数：419 GHz, パルス幅：1 ms, パルス繰り返し周波数：5 Hz, 出力：20 W  
次に、立命館大学 SR センターに移動し、BL15 による構造解析を実施した。測定は反射モード、

32 回積算で行った。

タンパク質二次構造解析については、東京理科大学に設置されてある解析ソフトを用いた。また、電子顕微鏡(SEM)を用いて表面形状の観察を行った。

**結果、および、考察：** Fig. 1 に赤外顕微鏡によるタンパク質二次構造解析の結果を示す。非照射のアミロイドペプチドの二次構造は、 $\beta$ -sheet が 45%程度含まれており、 $\alpha$ -helix はほとんど存在しない。これに対し、ジャイロトロンを 30 分照射すると、 $\beta$ -sheet が 70%近くまで増大し、turn やその他のコンフォメーションの割合が低下した。このことは、ジャイロトロン照射によって線維化が促進したことを示している。一方、単なる加熱処理の場合であるが、308 K では $\beta$ -sheet が 40%以下まで低下し $\alpha$ -helix が 10%程度まで増えている。しかし 318 K になるとその傾向はなくなり、 $\beta$ -sheet の増大も 50%以下に留まった。このことは、単なる加熱処理では二次構造の割合の変化はジャイロトロンに比較してそれほど大きな変化ではないことを示している。Fig. 2 に走査型電子顕微鏡による観察結果を示す。照射前の形状は、直径 1 $\mu$ m 程度のサイズの岩のような塊であるが、ジャイロトロンを照射すると数十 $\mu$ m の長さの長い棒状に変化した。一方、単なる加熱処理では塊が溶解した状態に変化した。この観察結果からもジャイロトロンによる照射効果は加熱処理とは全く異なることが示された。

今回の実験は、ペプチド試料をある程度乾燥させた状態で実施したため、線維化に關与する水の影響については不明である。遠赤外線は水によく吸収される性質があることを考慮すると、今後、ペプチド試料を水溶液に懸濁した状態で照射を行うことによって、より顕著に試料の構造変化が明らかになるものと考えている。

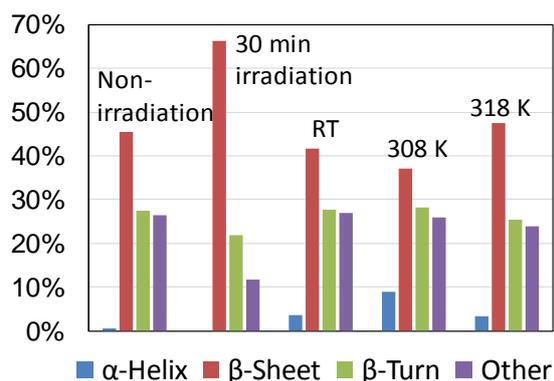


Fig. 1. Protein secondary structure analysis.

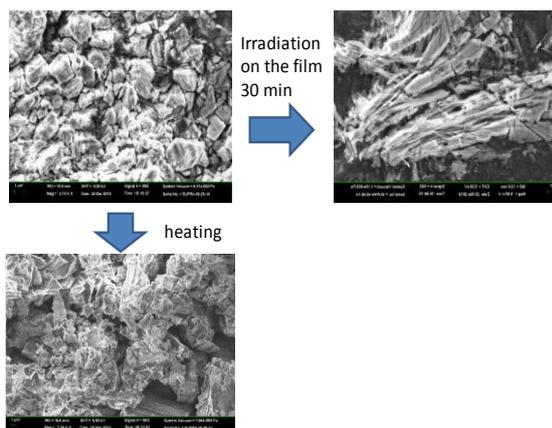


Fig. 2. SEM observation.

### 参考文献

- [1] T. Kawasaki, T. Yaji, T. Ohta, K. Tsukiyama, K. Nakamura, Cellular and Molecular Neurobiology, 38 (2018) 1039.
- [2] T. Kawasaki, T. Yaji, T. Ohta, K. Tsukiyama, J. Synchrotron Radiation. 23 (2016) 152.

### 研究成果公開方法／産業への応用・展開について

- ・本研究成果はバイオマテリアル系国際ジャーナルに投稿予定である。