解説

超音波による蛋白質のアミロイド形成・結晶化の促進

宗 正智¹, 八木寿梓², 後藤祐児¹

¹大阪大学蛋白質研究所

²鳥取大学工学部附属グリーンサステナブルケミストリー研究センター

Protein crystals form in supersaturated solutions via a nucleation and growth mechanism. The amyloid fibrils of denatured proteins also form via a nucleation and growth mechanism. This similarity suggests that, although protein crystals and amyloid fibrils are distinct in their morphologies, both processes can be controlled in a similar manner. We show that ultrasonication is one of the most effective methods of agitation for accelerating spontaneous fibrillation. We also show that ultrasonication is also useful for forming crystals of proteins. We address the underlying mechanism of the ultrasonication-dependent breakdown of supersaturation, leading to the formation of amyloid fibrils or protein crystals.

amyloid fibrillation / crystallization / solubility / supersaturation / ultrasonication

1.

はじめに

多くの蛋白質は折り畳まれて特異的な構造を形成して機能する。他方、温度や pH の変化などの周辺環境により、蛋白質は変性し、しばしば凝集する。蛋白質の研究は溶液を用いて行われることが多いので、発現・精製過程、実験途中での凝集は研究の遂行を妨げるものとして嫌われてきた。1990 年代以降、医学の分野で蛋白質の凝集が様々な疾患の原因となっていることが注目された。さらに大腸菌などを用いた蛋白質の発現・精製途中での凝集や、薬学の分野における蛋白質製剤の凝集なども深刻な問題となり、蛋白質の凝集は避けて通れない問題となった。これらを背景に、多くの蛋白質研究者がアミロイド線維研究に参集し、驚くべきその実体が明らかになっていった。

蛋白質が天然構造とは異なる折り畳みをして生じる凝集体“アミロイド線維”は、長さ数 μm ほどの細長い線維であり、 β ストランドが線維軸方向に対して垂直に並んだクロス β 構造を有している¹⁾⁻³⁾。アミロイド線維が関わる疾患はアミロイドーシスと総称される。アルツハイマー病や II 型糖尿病など 30 種類以上の疾患が報告されており、大きな社会問題となっている。近年では、アミロイド線維は必ずしも病気に関わるものばかりでなく、ペプチドホルモンの貯蔵形態や細胞表面を覆うバイオフィルムなどのように、正常な細胞や組織で利用される“機能性アミロイド”も見つ

かってきている⁴⁾。これらのことから、アミロイド線維の形成は蛋白質の持つ一般的な性質であると考えられ、最近ではアミロイド線維を利用した素材開発といった試みも報告されている。アミロイド線維の構造や凝集機構を明らかにすることは、蛋白質の基本的な性質を理解するだけでなく、アミロイドーシスの治療や予防、さらには、蛋白質の形態制御を利用した産業利用という観点からも重要である。

2.

アミロイド線維形成と結晶形成の類似

構造生物学の分野では X 線結晶回折による蛋白質の立体構造解析が、生命科学の発展に大きな役割を果たしてきた。X 線結晶構造解析には蛋白質単結晶が必要であり、結晶化プロセスに関する詳細な研究や、良質な結晶を作成する手法が開発されてきた。溶質の析出現象である結晶化は、溶質濃度が溶解度を越えたときに起きる(図 1)まず、核形成が始まり、結晶核へ別の分子が規則的に結合して結晶は成長する。結晶成長の特徴は、核形成反応に時間がかかること(ラグタイム)、結晶核(シードあるいは鋳型)を加えることによってラグタイムがなくなること(シーディング反応)である。結晶化反応が終了すると溶液中の蛋白質濃度は、溶解度と等しくなる。

自発的なアミロイド線維の形成反応にはラグタイムが存在し、既存の線維をシードとして加えるとラグタ

Ultrasonication-Induced Acceleration of Amyloid Fibrillation and Protein Crystallization

Masatomo SO¹, Hisashi YAGI² and Yuji GOTO¹

¹Institute for Protein Research, Osaka University

²Center for Research on Green Sustainable Chemistry, Tottori University

図 1

β2m の pH 2.5 における塩濃度に依存した状態変化の相図。領域 1 では β2m 濃度は未飽和であり、可溶化している。領域 2 は溶解度を越えているがアミロイド線維核がない限り β2m は析出しない過飽和状態にある。領域 3 では自発的に核形成が起きる。領域 4 では非常に強い相互作用のために無秩序な構造の不定形凝集（ガラス状態）ができる。超音波などの撹拌により領域 2 と 3 の境界が下がり、核形成が起きやすくなる。文献 6 より。

イムがなくなる。そこでアミロイド線維の形成反応は溶質の結晶化によく似た反応であることが、研究の当初から指摘されていた。ただし、結晶が 3 次元方向に原子や分子が配向していくのに対し、アミロイド線維は 1 次元方向に規則正しく成長していく。また、極めて短いペプチドを除き、アミロイド線維は単結晶ではない。

我々は、透析アミロイドーシスの原因蛋白質である β2 ミクログロブリン (β2m)⁵⁾ を用いてアミロイド線維の形成機構を研究してきた。β2m は酸変性状態で容易に線維を作るため、アミロイド線維のモデル蛋白質として詳細な研究が行われてきた。β2m は、主要組織適合性抗原の軽鎖であり、通常は、全身の細胞表面で発現された β2m は血中に放出され、腎臓で分解される。分子量約 1 万の β2m⁵⁾ は透析膜を通らず、また、腎臓での分解も起きないため、長期血液透析患者体内の血中 β2m 濃度は正常人の約 50 倍にもなる。このような状態が 10 年以上続くと β2m はアミロイド線維を形成し、透析アミロイドーシスの発症に至る。β2m の濃度の上昇が発症の最も重要な危険因子と考えられるが、すべての透析患者で透析アミロイドーシスが発症するわけではない。

酸変性した β2m は塩の存在しない条件で水によく溶ける。つまり、β2m の溶解度は高く、0.1 mg/ml 程度の蛋白質溶液は未飽和状態にある（領域 1）⁶⁾。塩濃度を高くしていくと溶解度は下がり、0.1 mg/ml の β2m 溶液でも溶解度を越えた状況になる（領域 2）。ところが、すぐには何も析出しない。結晶化に対応させると、蛋白質溶液は過飽和状態の「準安定状態」にあるとみなすことができる。準安定状態においてアミロイド線維を形

成するためには、結晶化と同様にシードが必須である。シーディングによりアミロイド線維の析出が始まると、蛋白質濃度が溶解度と等しくなるまで析出が続き、溶解度に達したところで平衡状態となり、線維の成長は止まる。溶解度を越えると析出が起きることから溶解度は、結晶化反応と同様に臨界濃度とも呼ばれる。

さらに塩濃度を高くすると結晶化反応と同様に不安定状態になる（領域 3）。不安定状態では一定のラグタイムの後に自発的な線維形成反応が起きる。不安定状態からさらに塩濃度を高めると溶液中のいたるところで核形成が生じると共に不定形（アモルファス）凝集ができる（領域 4）。この領域では分子内の様々な部位で分子間相互作用が起きるため、秩序を持ったアミロイド線維はできない。結晶化反応において不定形凝集はガラス状態とも呼ばれる。

このように相図を用いると、線維形成反応と結晶化反応がよく似た反応であり、共に溶質の相転移として理解できる⁶⁾。つまり、アミロイド線維も蛋白質の結晶も、過飽和溶液中からの析出物である。ただし、蛋白質の結晶化は天然状態の析出であり、アミロイド線維は変性状態の析出である。蛋白質 1 分子において結晶化に伴う目立った構造変化はないが、アミロイド線維形成では大きな構造変化に伴い、初期構造に関わらず、でき上がったアミロイド線維は β 構造に富む。

なお、アミロイドーシスを発症しない患者においては、血中 β2m 濃度は溶解度を越えているが、準安定状態が保たれている。そして、何らかの要因によって準安定状態から不安定状態になることによってアミロイド線維が形成され、透析アミロイドーシスを発症していると考えられる^{7), 8)}。

3.

超音波によるアミロイド線維形成

準安定状態においては、核形成の非常に高い自由エネルギー障壁のために、静置する限り自発的な反応は起きない。このような条件でも長時間経過すると自発的なアミロイド線維形成は起きると考える研究者もあるが、結晶化における準安定状態という立場に立つと、基本的はいくら待っても核形成は起きない領域とみなすことが妥当である。

他方、振盪やスターラーなどによる反応溶液の撹拌によって線維形成を促進させる様々な試みが行われてきた。結晶化の準安定条件においても撹拌などのアジテーションを行うと、自発的な核形成が起り、線維伸長が進むことも知られている。後で述べるようにアジテーションによって不安定領域が広がると考えるの

が1つの説明であるが、詳細な機構は不明である。

Stathopoulos らは2004年、超音波照射により種々の蛋白質でアミロイド様の凝集体ができることを報告した⁹⁾。当時、我々も「超音波は攪拌と同様に自発的なアミロイド線維形成を促進するためのアジテーションとして利用できるのではないか」という発想から研究を進めていたので、Stathopoulos らの論文には「先を越された」と驚いた。超音波は約20 kHz以上の周波数で、我々の耳には聞こえない音波である。超音波の用途は広く、生命科学の分野では、細胞破碎や実験器具の洗浄、非侵襲検査などに超音波照射が使用されてきた。近年では超音波を用いた顕微鏡技術などが生命科学の分野で威力を発揮している¹⁰⁾。そもそもアミロイド研究において超音波は、強い攪拌力やそれによって生じるせん断力によって線維を分断して線維核となるシードを増やすことに頻繁に用いられてきた。アミロイド線維の伸長は線維末端で起こるため、シードの数を増やすことで線維形成反応を加速することができる(図2A青)。

我々のグループでは $\beta 2m$ を用いて、超音波照射の効果を詳細に検討し、超音波によって形成するのが正にアミロイド線維であることを実証した¹¹⁾。0.1 M NaClを含んだpH 2.5の酸変性 $\beta 2m$ 溶液(0.3 mg/ml)は、シーディングによってアミロイド線維を形成するが、静置する限り、数日経過しても何も起こらない。つまり、過飽和状態にある。この溶液に超音波を照射した。アミロイド線維の検出には線維特異的に結合して蛍光を発するチオフラビンT(ThT)の蛍光測定と光散乱測定を用いた。20 kHzの超音波の1分照射と9

分の静置インキュベーションのサイクルを繰り返すと、約1時間後にThTの蛍光と光散乱の値が急激に上昇した(図2A赤)。この反応時間は、従来のスターラーによる自発線維形成に比べ早かった。原子間力顕微鏡により、シーディング反応でできた線維より短い長さ100 nm程の線維が確認された(図2B, C)。形成した線維をモノマー溶液に少量加えたところラグタイムのないThT蛍光と光散乱値の急激な上昇が見られ、シーディング反応が確認された。以上から、超音波照射によってできた凝集物がシーディング能力を持つアミロイド線維であることがわかった。

超音波照射による $\beta 2m$ のアミロイド線維形成の促進を、より生理的条件に近い中性条件、蛋白質濃度や塩濃度を変えた条件において確認した¹²⁾。さらに卵白リゾチーム¹³⁾、アルツハイマー病に関わる $A\beta$ ¹⁴⁾、パーキンソン病に関わる α シヌクレイン¹⁵⁾など様々な蛋白質でも確認し、超音波によるアミロイド線維の自発形成に対する促進効果の一般的性が明らかとなった。

アミロイド線維は結晶に類似しているとはいっても、長さは不均一であり、単結晶にはならない。このために極めて短いペプチドの形成するアミロイド微結晶を除き、X線結晶解析や溶液NMR測定の直接的な対象とはならなかった。超音波はアミロイド線維の自発形成と線維の断片化を共に促進する。そこで、超音波照射条件をうまく制御することにより、短くて均質なアミロイド線維が形成され、構造解析に用いることができるのではないかと期待した。実際に酸性条件で $\beta 2m$ に超音波を照射し続けた後、溶液を超遠心分析法により解析したところ、約140分子からなる比較的単分散の線維ができていることがわかった¹⁶⁾。このようにして作製した線維微粒子を用いて溶液NMR測定をしたところ、断片化していない線維ではほとんど見られなかったNMR信号の検出に成功した¹⁷⁾。この信号はN末端の揺らいでいる領域に由来する信号であった。線維内部に埋もれている残基の信号は依然として検出できていないが、線維をさらに断片化し均一化することによって検出が可能になるかもしれない。また、このような線維の断片化・均一化は固体NMRによる線維構造解析や結晶作製にも有力であると考えられる。

図2

(A) $\beta 2m$ のアミロイド線維形成反応。振とうによる攪拌(黒)に比べ超音波(赤)では非常に速く自発線維形成が起こる。線維核をモノマー溶液に加えるとラグタイムのない線維形成反応が見られる(青)。(B, C) 超音波有り(B)となし(C)の条件でできたアミロイド線維のAFM画像。

4.

アミロイド線維に対する超音波の作用機構

超音波によるアミロイド線維形成の促進効果は、一般的なスターラーや振盪機による攪拌と比較して非常に速い。アミロイド線維形成を促進する超音波の効果とは、いったい何なのであろうか。超音波(音波)は

縦波であり、水中へ超音波を照射すると媒質（水）の疎密ができ、局所的な圧力の低下が生じる。水中には溶存気体があるため、減圧により溶存気体が泡として生じる**キャビテーションバブル**の発生が起こる。キャビテーションバブルは超音波の振動により膨張と圧縮を繰り返し、成長する。成長したキャビテーションバブルは加圧時に強く収縮し破裂する。この際、キャビテーションバブル内部に局所的な超高温高圧状態ができる。このときにOHラジカルなどの反応性の高いラジカル種が生成する。さらにキャビテーションバブルの生成と圧壊により溶液の攪拌効果やせん断力が生じることが知られている。

アミロイド線維形成に対して超音波がどのような分子機構で作用しているのかは非常に興味深い。溶液への超音波照射条件に関する情報は、多くの文献で超音波発生装置への入力電圧のみである。実際に蛋白質溶液で何が起きているのかを明らかにするには、溶液中に照射されている超音波の強度や周波数などの物理量を明らかにすることが重要である。我々は実験を効率よく行うために、96ウェルプレートと水槽型の超音波照射装置を用いた。

96ウェルプレートに同じ試料を加え、水槽の中心にプレートを固定して超音波を照射すると、ウェルごとに線維形成のラグタイムが大きくばらついた（図3）。これはプレートに照射される超音波の強度が異なるためであると考え、96ウェル内の超音波をPZT（ジルコン酸チタン酸鉛）圧電素子を用いて測定した。これにより、ウェル内に実際に照射されている音（超音波）の大きさ（音圧）とその周波数がわかる。その結果、超音波強度（音圧）の分布がアミロイド線維形成のラグタイムの分布とよく似ていることがわかった。このことから、アミロイド線維形成反応が超音波強度依存的に起こることが示唆された。また、超音波強度を見積もる方法として超音波照射による溶液の温度上昇度を測定するカロリメトリー法やキャビテーションバブルの崩壊時に生じる活性酸素種の発生量をKIの酸化還元反応で見積もるKI酸化法を用いた。いずれの方法においても、アミロイド線維形成反

図3 超音波とマイクロプレートを用いたアミロイド線維のハイスループットアッセイ実験系。

応が超音波強度に依存することが示された。さらに、蛍光分光光度計のセルに直接超音波照射をすると同時に、PZT素子を用いて溶液中に照射されている超音波の測定をリアルタイムで行う実験系を構築した⁶⁾。これにより、超音波の強度に関する正確な情報が得られるとともに、超音波発信機から発生される基本周波数の解析とキャビテーションバブルの発生量によって生じる基本波の整数倍や整数分の1の周波数の高調波や分調波についても解析が可能となった。リアルタイム解析の結果から、アミロイド線維形成は超音波強度に依存した反応であることが確認された。

アミロイド線維形成には、超音波照射によって生じたキャビテーションバブルが重要な役割を果たしていると考えられる（図4）²³⁾。キャビテーションバブル表面の気液界面では蛋白質が吸着、集合して局所的に高濃度になる。そして、蛋白質は構造変化すると共に、相互作用して凝集体を形成すると予想される。その中に線維核となることのできる構造が含まれていれば、核依存的に線維の速やかな伸長反応が進行する。さらに、超音波キャビテーションによる攪拌によって生じたせん断力によって、伸長した線維の断片化が起きる。これにより2次核形成（新たな線維末端形成）が促進され、爆発的な伸長反応が進む。

相図（図1）を用いて超音波の効果を説明すると、準安定状態への超音波照射によって準安定相（領域2）と不安定相（領域3）の境界を下げることによって不安定相を拡張し、アミロイド線維形成を促進していると考えられる。なお、超音波によって生じるOHラジカルなどのラジカル種によって様々な化学反応が引き起こされることはよく知られているが、ここでは蛋白質の顕著な分解反応はなかった¹⁶⁾。ただし、徹底的な超音波照射によって蛋白質の化学的な分解が誘導されることも十分に考えられ、これがアミロイド線維にど

図4 水中への超音波照射で引き起こされる物理的・化学的現象とアミロイド線維・結晶化に対する効果。文献23より改変。Copyright (2013) The Japan Society of Applied Physics.

のように影響するかは、今後の問題として興味深い。

一方、A β の濃度を変えて超音波照射実験を行うと、ペプチド濃度が 1.5 μ M 以下では、線維形成が起きないことが示された。また、あらかじめ高濃度の A β で作った線維の濃度を 1 μ M 以下に希釈して静置しても線維は安定に保たれたが、超音波を照射すると線維の断片化や攪拌効果により溶解が促進された¹⁴⁾。以上より、超音波はアミロイド線維の形成と分解（脱重合）のいずれにおいても、反応のエネルギー障壁を下げ、その溶液条件で最も安定な平衡状態へ導くための強力な手法であると考えられる。

5. アミロイド線維形成実験の効率化と制御

アミロイド線維形成能や線維形成阻害方法を見つけることはアミロイドーシスの予防や治療に非常に重要である。アミノ酸配列から蛋白質のアミロイド原性を予測する方法はいくつか提案されているが、実際にアミロイド線維を形成する配列は実に様々である。周辺の環境にも左右されるために、溶液条件とアミロイド線維形成の関係はいまだによくわかっていない。他方、従来の自発線維形成実験は時間のかかる、再現性の低い実験であるため、網羅的に線維形成の促進や阻害実験を行うには長い月日を必要としていた。

Otzen らのグループはマイクロプレートの各ウェルにガラスビーズを入れて攪拌してアミロイド線維形成を促進し、ThT 蛍光とマイクロプレートリーダーを用いて多検体アッセイを行うハイスループットアッセイ法を紹介した¹⁸⁾。我々のグループでは、超音波照射装置とマイクロプレートリーダーを組み合わせたハイスループットアッセイ法を構築した¹²⁾。水槽の中心にマイクロプレートを固定したままだとアミロイド線維形成のラグタイムがウェルごとに大きくばらついてしまった。そこで、プレートの回転移動や均一な超音波の伝播方法の改善を試みた。これらの工夫により、ウェルによるラグタイムのばらつきが解消され、再現性のある実験を短時間で行うことができた。

以上の実験をもとに多試料の線維形成反応促進と蛍光測定を自動で行うことができる装置 HANdai Amyloid Burst Inducer (HANABI) を開発した (図 5)^{19), 24)}。HANABI により、様々な溶液条件での線維形成反応が短時間で素早く自動で行うことができる。この装置を利用して、どのような溶液条件で線維ができやすいかといった線維形成機構の解明や、様々な薬剤候補物質による線維形成阻害能を素早く調べる創薬スクリーニングを行うことが可能である。また、アミロイド線維を形成

図 5 HANABI を用いた β 2m のアミロイド線維形成。(A) HANABI の概観。(B) 96 ウェルプレートを有したプレートの移動なし (左) と有り (右) の場合のアミロイド線維形成。文献 12 と 24 より改変。

するかどうかかわかっていない蛋白質に対して、超音波照射することにより、新たなアミロイド原性蛋白質の発見や体内でのアミロイド線維形成リスクの検出などの応用が期待できる。

6. 超音波による蛋白質結晶生成

結晶化とアミロイド線維形成が非常によく似た反応であることから、超音波が蛋白質の天然状態の過飽和状態を解消し、結晶化を促進することが容易に想像できる。最近、超音波による蛋白質の結晶形成の促進が報告された²⁰⁾。蛋白質溶液の積極的な攪拌²¹⁾や、蛋白質溶液に対するパルスレーザー照射²²⁾が結晶化を促進することが知られているが、発想は全く同じである。我々のグループで HANABI を用いて卵白リゾチームやグルコースイソメラーゼの結晶化に対する超音波照射の効果を調べたところ、結晶化反応が静置条件に比べ速やかに起こることが示された (図 6)¹⁹⁾。結晶化の初期スクリーニングにこの装置が使えることが示された。このように、超音波は過飽和状態を素早く解消し、より安定な平衡状態へと移行させる効果的な手段である。多試料に比較的均質な超音波を照射できることから、スターレーやパルスレーザーに比べて取り扱いが簡単である。HANABI は、アミロイド原性や結晶化のスク

図 6
HANABI を用いたリゾチームの結晶化促進。(A) 超音波なし。(B) 超音波有り。文献 19 より。

リーニング以外にも、過飽和によって制御される様々な反応の研究に威力を発揮することが期待できる。

7. おわりに

本稿では蛋白質のアミロイド線維形成反応と結晶化反応について、溶解度と過飽和、超音波の効果の観点から、両者の共通点を解説した。溶質の過飽和現象と晶析現象は蛋白質の結晶やアミロイド線維だけでなく、水の過冷却現象など自然界に極めて普遍的な現象である。生体内ではしばしば蛋白質が高濃度で存在し、凝集体や集合体を作ることが避けられない状況になる。生物は過飽和現象をうまく利用することで蛋白質の析出現象を制御し、ときには生体反応に必要な構造体を作り、不都合な場合にはそれを避けるように進化してきたのであろう。アクチンや微小管の重合や酵素複合体の集合、分子シャペロンによるフォールディングの制御などにも、過飽和が関わっていると考えられる。このような現象を理解するためには、蛋白質の溶解度や過飽和に対する理解を深めていく必要がある。さらに、超音波は過飽和を解消し晶析を促進する効果的な手段であり、生命科学の新たな地平を開拓する手段となることが期待できる。

文 献

- 1) Dobson, C. M. (2003) *Nature* **426**, 884-890. DOI: 10.1038/nature02261.
- 2) 後藤祐児 (2013) 領域融合レビュー **2**, e002. DOI: 10.7875/leading.author.2.e002.
- 3) Eisenberg, D. *et al.* (2012) *Cell* **148**, 1188-1203. DOI: 10.1016/j.cell.2012.02.022.
- 4) Fowler, D. M. *et al.* (2007) *Trends Biochem. Sci.* **32**, 217-224. DOI: 10.1016/j.tibs.2007.03.003.
- 5) Yamamoto, S. *et al.* (2005) *Biochim. Biophys. Acta* **1753**, 4-10. DOI: 10.1016/j.bbapap.2005.09.006.
- 6) Yoshimura, Y. *et al.* (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 14446-

14451. DOI: 10.1073/pnas.1208228109.
- 7) Goldschmidt, L. *et al.* (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 3487-3492. DOI: 10.1073/pnas.0915166107.
- 8) Ciryam, P. *et al.* (2013) *Cell Reports* **5**, 781-790. DOI: 10.1016/j.celrep.2013.09.043.
- 9) Stathopoulos, P. B. *et al.* (2004) *Protein Sci.* **13**, 3017-3027. DOI: 10.1110/ps.04831804.
- 10) Tinker-Mill, C. *et al.* (2014) *Sci. Rep.* **4**. DOI: 10.1038/srep04004.
- 11) Ohhashi, Y. *et al.* (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 32843-32848. DOI: 10.1074/jbc.M506501200.
- 12) So, M. *et al.* (2011) *J. Mol. Biol.* **412**, 568-577. DOI: 10.1016/j.jmb.2011.07.069.
- 13) Lin, Y. *et al.* (2014) *Langmuir* **30**, 1845-1854. DOI: 10.1021/la403100h.
- 14) Yagi, H. *et al.* (2013) *Biochim. Biophys. Acta* **1834**, 2480-2485. DOI: 10.1016/j.bbapap.2013.08.013.
- 15) Kim, H. J. *et al.* (2007) *J. Microbiol. Biotechnol.* **17**, 2027-2032.
- 16) Chatani, E. *et al.* (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**, 11119-11124. DOI: 10.1073/pnas.0901422106.
- 17) Yoshimura, Y. *et al.* (2010) *Protein Sci.* **19**, 2347-2355. DOI: 10.1002/pro.515.
- 18) Giehm, L. *et al.* (2010) *Analytic. Biochem.* **400**, 270-281. DOI: 10.1016/j.ab.2010.02.001.
- 19) Kitayama, H. *et al.* (2013) *Biochim. Biophys. Acta* **1834**, 2640-2646. DOI: 10.1016/j.bbapap.2013.09.016.
- 20) Crespo, R. *et al.* (2010) *J. Appl. Crystallogr.* **43**, 1419-1425. DOI: 10.1107/S0021889810040951.
- 21) Yaoi, M. *et al.* (2004) *Jpn. J. Appl. Phys.* **43**, L1318. DOI: 10.1143/JJAP.43.L1318.
- 22) Iefuji, N. *et al.* (2011) *J. Cryst. Growth* **318**, 741-744. DOI: 10.1016/j.jcrysgro.2010.10.068.
- 23) Yoshimura, Y. *et al.* (2013) *Jpn. J. Appl. Phys.* **52**, 07HA01. DOI: 10.7567/JJAP.52.07HA01.
- 24) Umemoto, A. *et al.* (2014) *J. Biol. Chem.* **289**, 27290-27299. DOI: 10.1074/jbc.M114.569814.

宗 正智

宗 正智 (そう まさと)

大阪大学蛋白質研究所、日本学術振興会特別研究員

2014 年大阪大学大学院理学研究科博士後期課程修了、博士 (理学)

研究内容: アミロイド線維の形成過程、構造の解明

連絡先: 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 3-2

E-mail: mso@protein.osaka-u.ac.jp

八木寿梓

八木寿梓 (やぎ ひさし)

鳥取大学工学部附属グリーンサステナブルケミ

ストリー研究センター、テニュアトラック助教

2006 年鳥取大学大学院医学系研究科博士後期課程修了、博士 (再生医科学)

研究内容: 神経変性疾患の予防に関する研究

連絡先: 〒680-8550 鳥取市湖山町南 4-101

E-mail: yagi@bio.tottori-u.ac.jp

URL: <http://www.bio.tottori-u.ac.jp/~kino1/>

後藤祐児

後藤祐児 (ごとう ゆうじ)

大阪大学蛋白質研究所教授

1982 年大阪大学大学院理学研究科博士課程修了、

82 年徳島大学医学部助手、84 年大阪大学理学部

助手、同助教授を経て、98 年より現職。

研究内容: 蛋白質の構造と機能、物性、過飽和と生命科学の開拓をめざす。

連絡先: 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 3-2

E-mail: ygoto@protein.osaka-u.ac.jp

URL: <http://www.protein.osaka-u.ac.jp/physical/yoeki.html>