

プリオン形成中間体の構造解析

(千葉工大) 山本典史

Computational Analysis for Prion Formation (Chiba Institute of Technology) Norifumi Yamamoto

序論

プリオン病は、 α -ヘリックス構造に富む正常型プリオンタンパク質PrP^Cが β -ストランド構造に富む病原性異常型PrP^{Sc}に変化した結果、複数のPrP^{Sc}が凝集することで分子間 β -シート構造を骨格とするアミロイド線維を形成し、脳内に沈着・毒性化することで発症する。プリオン病の初期過程では、PrP^Cの一部が変性した過渡的中間体PrP*がPrP^{Sc}への変化を橋渡しする役割を担う。したがって、プリオン病の機序を解明するための手掛かりはタンパク質の特異な変性構造（プリオン形成中間体PrP*）にある。しかし、PrP*の具体的構造状態を明確に同定する手法は確立されていなかった。

本研究は、PrP*の構造解析に取り組み、プリオン病の病態機序を明らかにすることを目的とした。この目的を達成するため、PrP*の構造的特徴を抽出する手段として、二次構造情報に基づく新しいカーネル主成分分析 (SSPCA; Secondary Structure PCA) を開発した。SSPCAを適用した結果、プリオン形成中間体PrP*の有力な候補として、PrP^Cの一部がヘリックス \rightarrow ストランド転位した特徴的な変性状態を明らかにした。

方法

プリオン形成中間体PrP*は、二次構造はPrP^Cと比較的近く、 α -ヘリックスの一部が β -ストランドへと過渡的に転位した状態であると推測される。そこで、分子動力学計算などの構造サンプリングで得られるデータ群の中から「二次構造情報に基づいて」PrP*の特徴に合致する状態を抽出する新しい解析手法として、SSPCA (Secondary Structure PCA) を開発した。

まずはじめに、水溶液中のプリオンタンパク質を対象として、300K~400Kの範囲で温度レプリカ交換分子動力学 (T-REMD) を用いて構造探索に取り組んだ。REMDで得たタンパク質立体構造にDSSPプログラムを適用し、アミノ酸残基毎の二次構造要素を α -ヘリックス、 β -ストランド、コイルの3種類に帰属した。 i 番目の立体構造 \mathbf{Q}_i に対して帰属した n 残基目の二次構造要素を $X_{i,n}$ とした。立体構造データ $\{\mathbf{Q}\}$ 間の相関関係を二次構造要素に基づいて定量化する指標として

$$k(\mathbf{Q}_i, \mathbf{Q}_j) = \sum_n k_{ij,n} \quad k_{ij,n} = \begin{cases} 1 & (X_{i,n} = X_{j,n}) \\ 0 & (X_{i,n} \neq X_{j,n}) \end{cases}$$

を定義した。SSPCAは、上記のように定義した $k(\mathbf{Q}_i, \mathbf{Q}_j)$ をカーネル関数とする主成分分析法である。このカーネル関数が定める行列を \mathbf{K} とし

$$\mathbf{JKU} = \lambda \mathbf{U} \quad \mathbf{J} = \mathbf{I} - \frac{1}{N} \mathbf{1}\mathbf{1}^T$$

の固有値問題を解いた。固有値の大きな2つの成分に注目し、対応する固有ベクトルに構造データを射影した成分を、それぞれ、第一主成分 (SSPC1)、第二主成分 (SSPC2) とした。

結果と考察

REMDで得た構造にSSPCAを適用し、第一主成分 (SSPC1) と第二主成分 (SSPC2) を軸とする空間に射影することで、プリオンタンパク質の自由エネルギー地形 (図 1 a) を得た。さらに、この2次元空間の各地点に対応する立体構造中の二次構造要素の含有率を可視化した (図 1 b, 図 1 c)。

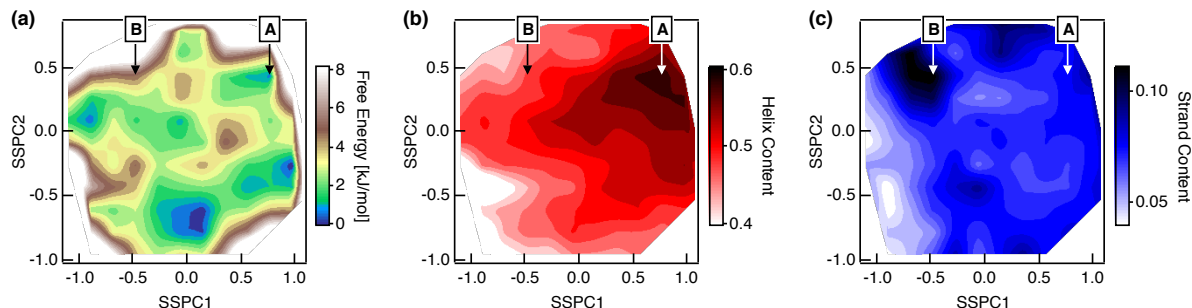


図 1. 自由エネルギー地形 (a)、 α -ヘリックス含有率 (b)、 β -ストランド含有率 (c)

図 1 aに示す自由エネルギー地形にはいくつかの盆地が現れた。各地点に対応するタンパク質構造のヘリックスおよびストランドの含有率を示す図 1 b, 1 cには特徴的なピークが現れた。このうち、ヘリックス含有率が最も高い地点をA、ストランド含有率が最も高い地点をBとすると、エネルギー地形上で、地点Aは盆地、地点BはAに比べて 4.2 kJ/mol エネルギーの高い斜面に位置していた。これらの地点に対応する立体構造に対して、アミノ酸残基毎の二次構造要素の含有率を図 2 に表す。

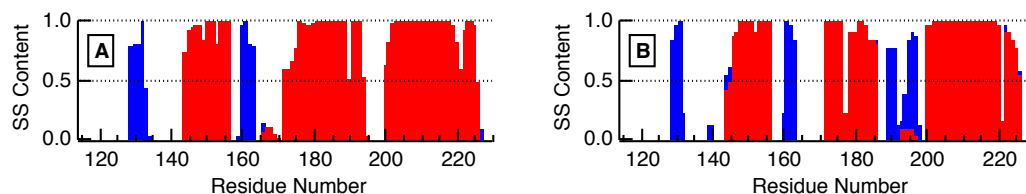


図 2. 立体構造中の二次構造要素 (赤:ヘリックス、青:ストランド、白:コイル) の含有率

地点Aに対応する立体構造の二次構造配列 (ヘリックス: 60%、ストランド: 8%) はNMRで決定された天然構造 (ヘリックス: 57%、ストランド: 4%) に類似する構造であった。一方、地点Bに対応する二次構造配列 (ヘリックス: 50%、ストランド: 12%) は、天然構造とは異なり、2つ目のヘリックスの炭素末端領域がほどけて、その一部がストランドに転位した構造であった。各地点の近傍でピックアップした立体構造のスナップショットを図 3 に示す。

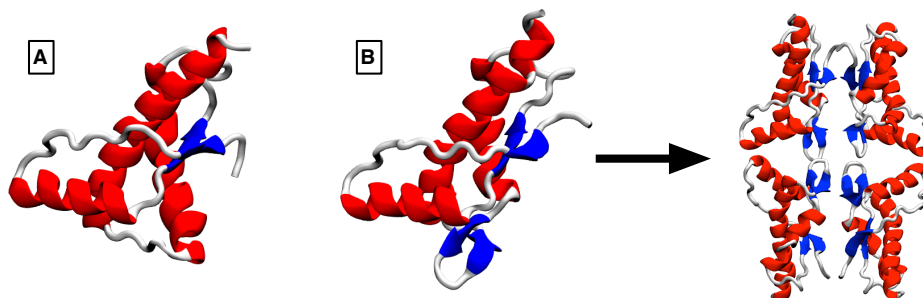


図 3. 地点AとBに対応するスナップショット (左)。推測されるプリオンオリゴマー (右)

地点Bに対応する部分変性構造から、プリオン形成の初期過程で生成する凝集体として、図 3 中に示す四量体モデルを推測した。この四量体モデルでは、ヘリックス \rightarrow ストランド構造転位した領域が分子間 β -シート形成に寄与すると考えられる。したがって、今回明らかにした地点B付近に対応する β -ストランドの含有率が増えた構造状態は、プリオン形成中間体PrP*の有力な候補である。