

# 神経変性疾患の病態形成に関わるタンパク質の構造変化

古川 良明 慶應義塾大学理工学部生命機構化学研究室 准教授

## 1. はじめに

多くのタンパク質は天然構造と呼ばれる個々にユニークな立体構造を構築することで、その生理機能を発揮する。しかし、アミノ酸変異や様々な環境変化が引き金となって、天然構造を構築できずに異常な立体構造を形成することがある。このプロセスは「ミスフォールド」と称され、タンパク質の機能喪失や新たな毒性獲得などを通じて、様々な疾患の発症に関わると考えられている。

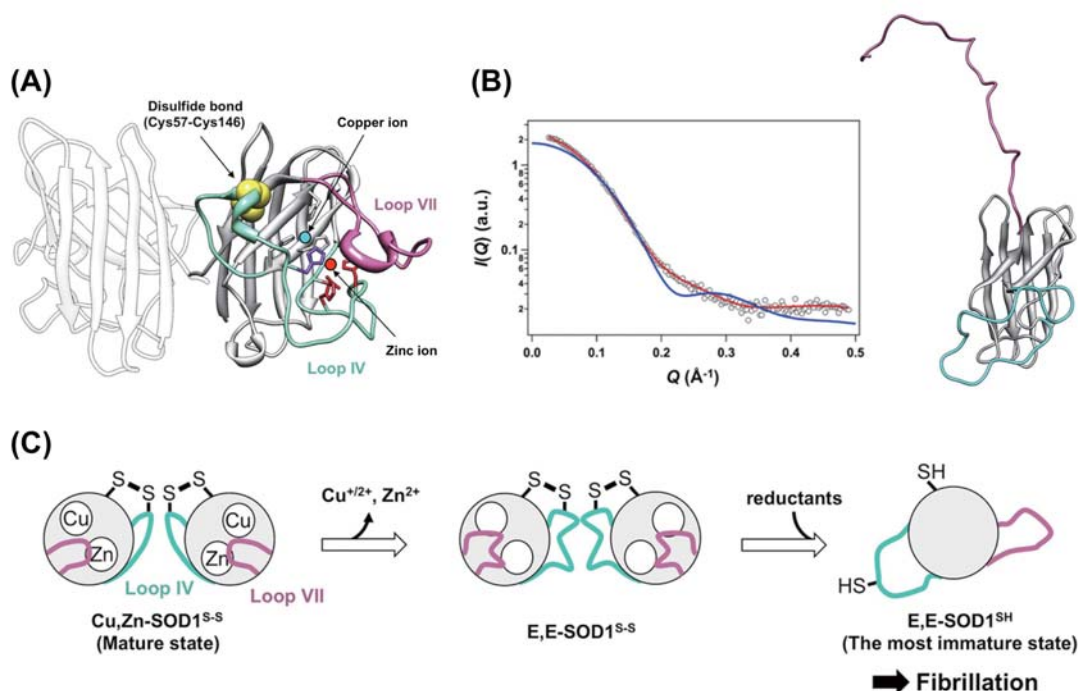
Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD1) 遺伝子の優性変異は、神経変性疾患の一種である筋萎縮性側索硬化症(SOD1-ALS)の原因となることが知られており、変異に伴うSOD1タンパク質のミ

スフォールドが疾患発症や病態進行に関与することが提案されている<sup>[1]</sup>。しかし、なぜ・どのようにSOD1がミスフォールドするのかは明らかでなく、SOD1-ALSに対する有効な治療・予防法についても未だ確立していない。

## 2. ミスフォールド型SOD1タンパク質の構造解析

SOD1は分子内にジスルフィド結合を有する金属タンパク質で(図A)、成熟型のSOD1は高い熱安定性( $T_m > 90\text{ }^\circ\text{C}$ )を有していることから、ミスフォールドするとは考えにくい。しかし、金属イオンが解離し、分子内ジスルフィド結合が切断した未成熟型のSOD1は、 $T_m$ が体温( $\sim 37\text{ }^\circ\text{C}$ )近くま

で低下し、天然構造を維持することができずに、線維状に凝集することが知られている<sup>[2]</sup>。そこで我々は、ジスルフィド切断型(SOD1<sup>noCys</sup>)、及び、ジスルフィド結合型のSOD1(SOD1<sup>S-S</sup>)について、円二色性(CD)分光法を利用した二次構造レベルでの評価を行った。その結果、ジスルフィド結合が切断すると、 $\beta$ -strandに特徴的なCDスペクトル(208 nmに負のピーク)から、不規則構造に特徴的なスペクトル(200 nmに負のピーク)へと変化することが分かった<sup>[3]</sup>。また、ジスルフィド結合の切断がSOD1の構造に及ぼす影響を残基レベルで明らかにするために、二次元NMR( $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HSQC)を利用したH/D交換法による検討を進めたところ



(A) SOD1の結晶構造。(B) SAXSで得られたSOD1<sup>noCys</sup>の散乱曲線(○)は、結晶構造から予測される散乱曲線(青色)とは一致しないのに対して、Loop IV/VIIが大きく揺らいだ状態(右図)を考慮することで予測される散乱曲線(赤色)でうまく説明できる。(C) 本研究で提案するSOD1の線維化メカニズム。金属イオンの解離とジスルフィド結合の切断によって、Loop IV/VIIの構造が大きく揺らぎ、通常はタンパク質内部に埋もれている領域が露出する。

る(北海道大学・石森研との共同研究)、SOD1の2つのループ領域(ループIV, VII: 図A)の揺らぎが特に増大することが分かった<sup>[3]</sup>。一方で、SOD1の構造的なコアを構成するβ-barrel領域への揺らぎに対しては、ジスルフィド結合の有無が及ぼす影響は小さいと考えられた。さらに、X線小角散乱(SAXS)を駆使することで、ジスルフィド結合の切断がSOD1の溶液中での形状に与える影響について検討した<sup>[3]</sup>。散乱曲線のギニエプロットから得られるSOD1<sup>S-S</sup>の回転半径(21.5±0.2Å)は、結晶構造(天然構造)から予測される値(20.9Å)と良く一致し、二量体を形成していることが確認された。一方で、SOD1<sup>noCys</sup>は単量体化し、その回転半径(18.4±0.2Å)は結晶構造から予測される値(15.5Å)よりも大き

いことが分かった。そこで、NMRやSAXSデータに基づく構造モデリングを行うと、ジスルフィド結合の切断に伴って、ループIV, VIIが不規則構造として揺らぎ、SOD1の構造的なコアであるβ-barrel領域が溶媒側に露出した形状になることが示唆された(図B)。このような内部構造の露出がSOD1分子間の異常な相互作用につながり、線維状に凝集する原因になると考えられる(図C)。現在は、本課題で得られた未成熟型SOD1の構造的な特徴を利用することで、SOD1のミスフォールド過程をターゲットとしたSOD1-ALSの新たな予防・治療法の開発に挑んでいる。

### 3. おわりに

本研究において、CD、及び、SAXSを用いた実験は、分子科学研究所の秋

山修志教授、向山厚助教との協力研究として行なったものである。特に、SAXSについては、装置の扱い方や測定手法はもちろんのこと、サンプル調製に関する指導から、具体的なデータ解析に至るまで、手取り足取りのお世話になった。単なる装置利用に留まらず、有効かつ友好的な共同研究として大いに勉強させて頂いた。共同利用システムの多大な恩恵を受けたことに感謝するとともに、同システムのさらなる発展を期待する。

### 参考文献

- [1] Rosen et al. *Nature* **1993** 362 59.
- [2] Furukawa et al. *J Biol Chem* **2008** 283 24167.
- [3] Furukawa et al. *J Biol Chem* **2016** 291 4144.



ふるかわ・よしあき

2002年京都大学大学院工学研究科分子工学専攻修了、博士(工学)取得。米国ノースウェスタン大学でのポスドク(海外学振など)、理研・脳科学総合研究センターでの研究員(基礎特研など)を経て、2010年4月より現職。  
 専門: 生物無機化学、タンパク質化学  
 趣味: クワガタ飼育