



放射光を用いた新技術でアミロイド線維の 微細溶液構造を初めて解明

—アルツハイマー病などの疾患原因蛋白質の構造・
機能研究への応用に期待—

広島大学放射光科学研究センター 助教 松尾 光一

広島大学 名誉教授 月向邦彦

広島大学放射光科学研究センター: 生天目博文教授, 谷口雅樹教授

東北大学大学院薬学研究科: 平松弘嗣助教

アメリカコロラド州立大学生化学・分子生物学部: Robert W. Woody教授

【本研究成果のポイント】

世界初の成果

- アルツハイマー病などの疾患原因物質であるアミロイド線維の放射光円二色性観測とその理論解析に世界で初めて成功

具体的な成果

- アミロイド線維の形態・毒性に重要な分子間微細構造を生理的条件下で初めて解明

波及効果

- これまで未解明であった疾患原因蛋白質の溶液構造とその機能研究に強力な新手法を構築

平成25年版 科学技術白書

第2部 科学技術の振興に関して講じた施策

第2章 将来にわたる持続的な成長と社会の発展の実現

第3節 ライフイノベーションの推進

- (1) 革新的な予防法の開発
- (2) 新しい早期診断法の開発
- (3) 安全で有効性の高い治療の実現
 1. 発生・分化・再生科学研究の推進(iPS細胞等)
 2. 革新的がん研究の推進
 3. タンパク質の構造・機能解析の推進

文部科学省では、「創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業」の中で、タンパク3000プロジェクトやターゲットタンパク研究プログラム等の事業を通して整備したタンパク質構造・機能解析の技術基盤を活用し、創薬等の実用化研究を支援するとともに、それらの高度化を進めている。

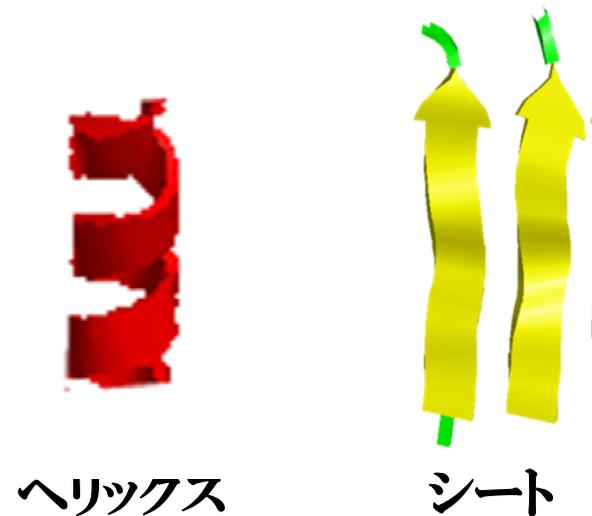
蛋白質の構造と機能発現

蛋白質の一次構造



主に炭素, 窒素, 酸素原子から成る

蛋白質の二次構造



ヴォート生化学より

蛋白質の機能

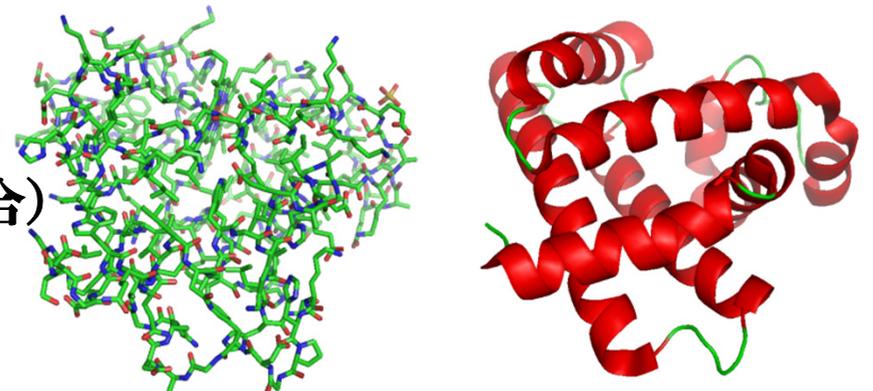
蛋白質-DNA相互作用
蛋白質-生体膜相互作用
アミロイド線維

蛋白質の三次構造

化学反応

構造変化
(会合・重合)

筋肉蛋白質ミオグロビン



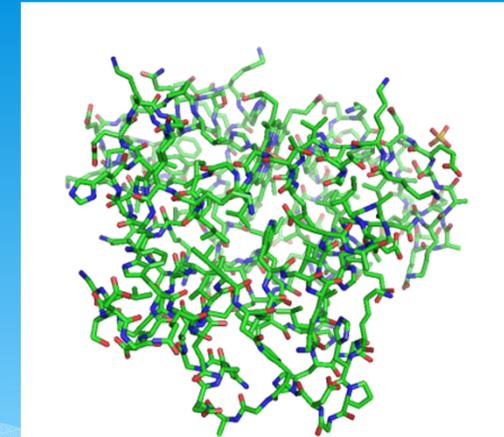
構造・機能の解明, 創薬の研究開発

蛋白質構造解析

X線結晶構造解析・NMR解析

- 原子レベルでの三次構造
- 結晶化の必要性や分子量の制限
- 膜蛋白質等の複合体は困難

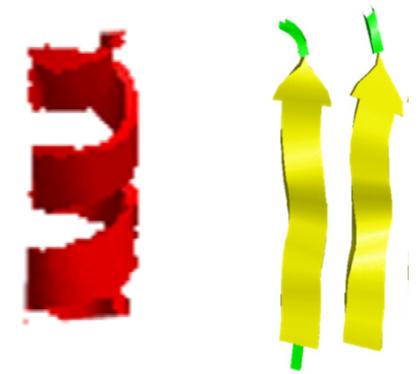
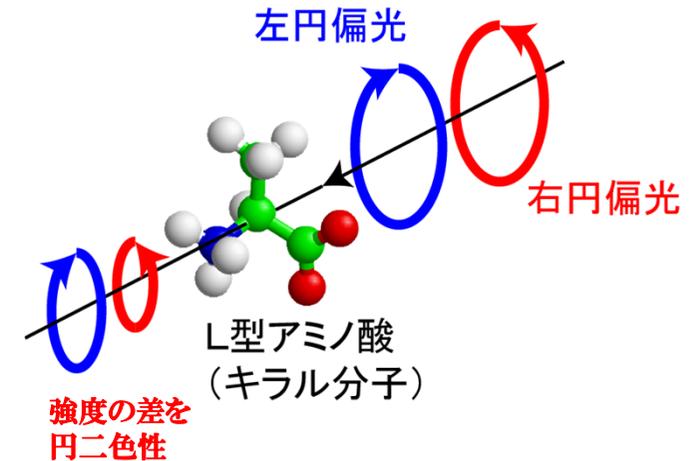
機能既知であるが、構造が不明な蛋白質が大量にある。



三次構造

円二色性 → 極めて汎用性が高い手法

- 蛋白質の種類や溶媒条件に制限が無い
(生理的条件下での計測が可能)
- 会合体・相互作用系等の複雑な複合体に対応
- 通常光源ではデータ量が少ない
- ヘリックスやシート等の二次構造



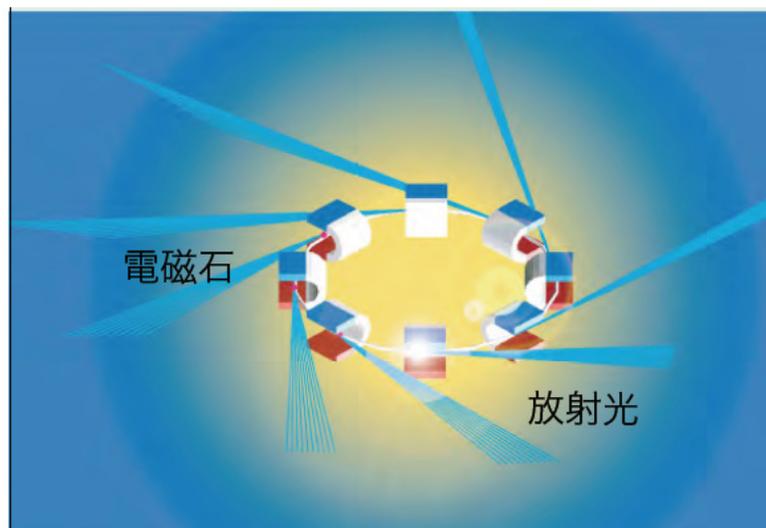
ヘリックス

シート

円二色性から三次構造に関する情報が得られれば？

蛋白質の構造・機能解析において放射光の重要性が高まっている

放射光とは、光速で直進する電子の進行方向が磁石などによって変えられた際に発生する電磁波。真空紫外領域からX線にわたる強力な光源。



可視からX線まで

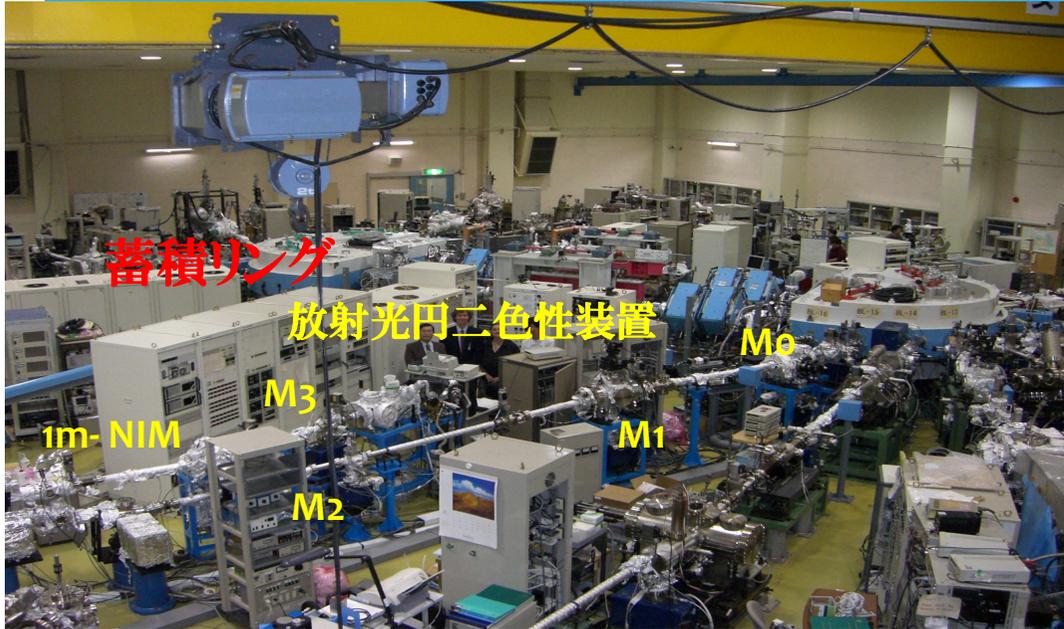
連続性
高輝度
指向性

放射光円二色性装置の開発に成功

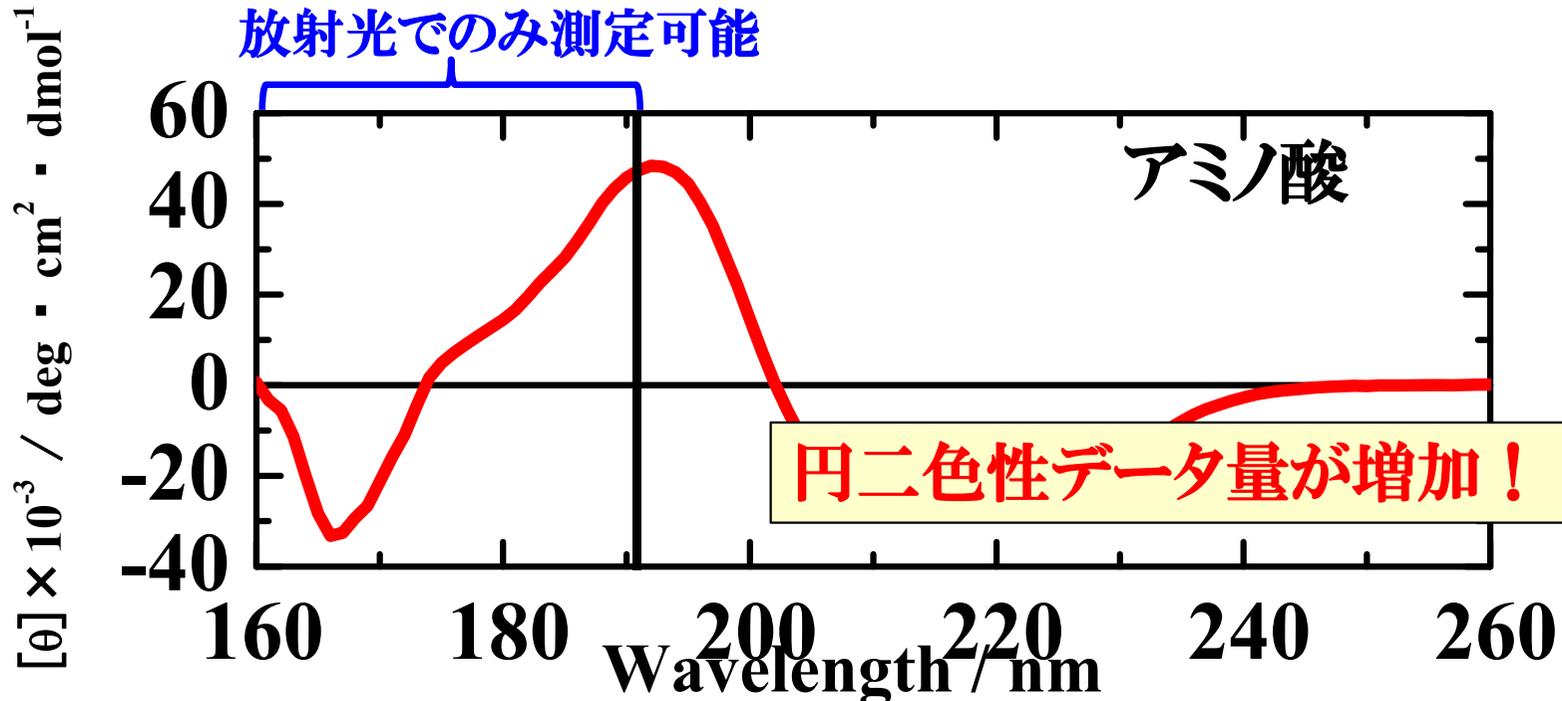
広島大学放射光科学研究センター(HISOR)

世界最高水準

放射光円二色性装置

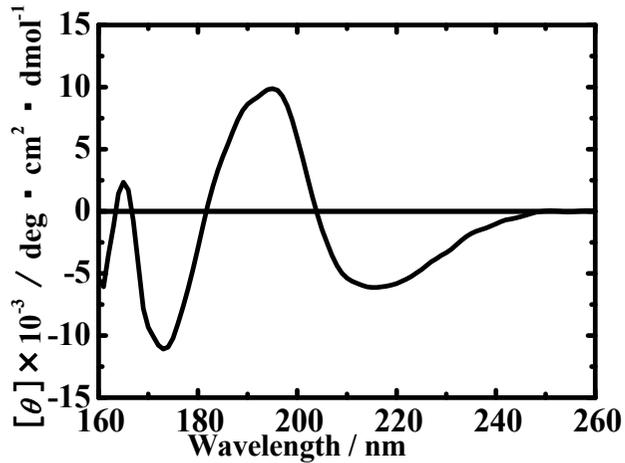


通常光源では測定できない真空紫外領域の円二色性測定が可能

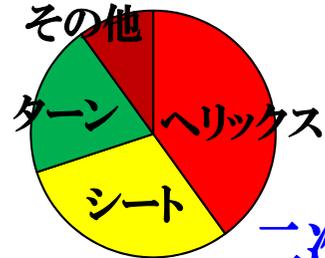
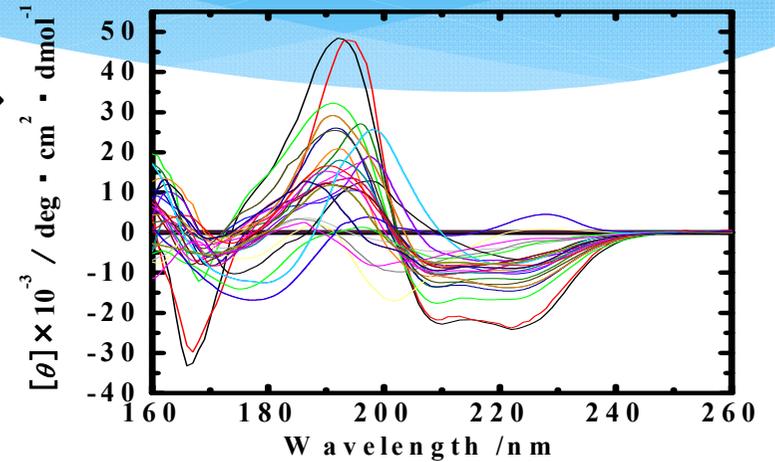
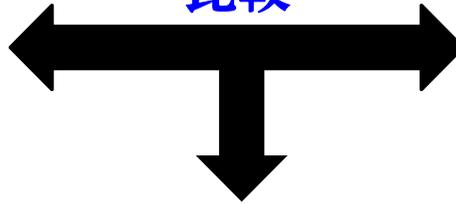


円二色性による蛋白質の構造解析の発展

従来は、データベースとの比較より二次構造含量を計算

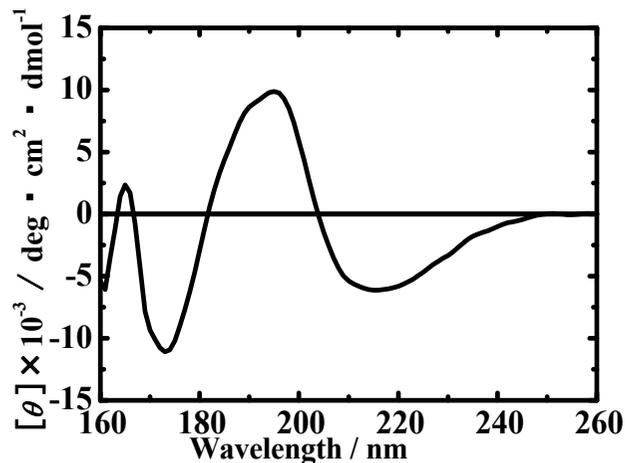


比較

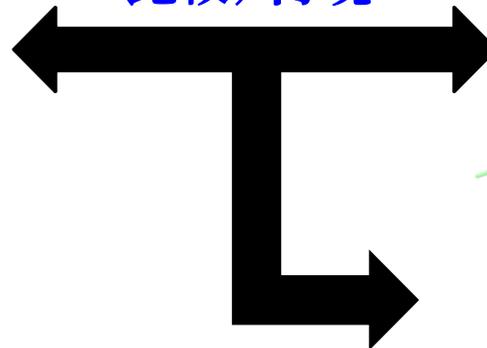


二次構造含量

本研究では、実測円二色性を理論計算から再現

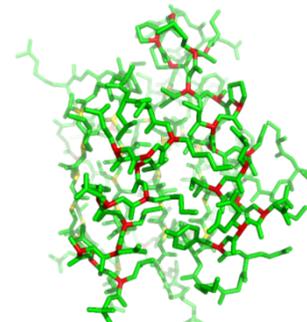


比較, 再現



円二色性理論と
原子レベルの三
次構造モデル

計算用ワークス
テーション

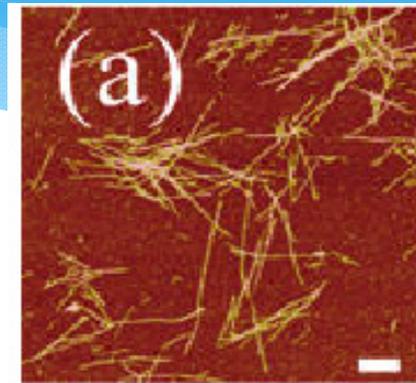


円二色性から三次構
造に関する情報！！

アミロイド線維とは、

アミロイドーシスという疾患の原因物質
アミロイド線維が全身の臓器の細胞外に沈着する疾患。

アルツハイマー病、透析アミロイド症、甲状腺髄様癌、ALアミロイドーシス、パーキンソン病、狂牛病、クロイツフェルトヤコブ病などがある。

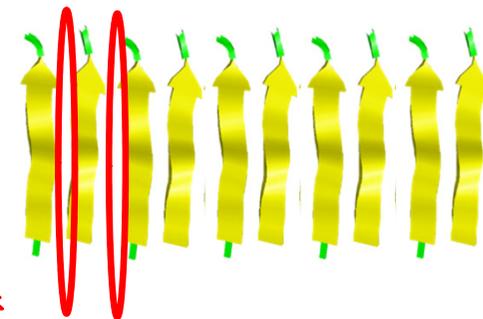


Biochemistry

アミロイド線維の画像

クロスβシートという特定の構造を持つ線維状の蛋白質である。蛋白質のβシート構造が積み重なることで形成される。幅は約10 nmで、枝分かれのない線維構造をつくっている。

コンフォメーション病



分子間構造

アルツハイマー病:

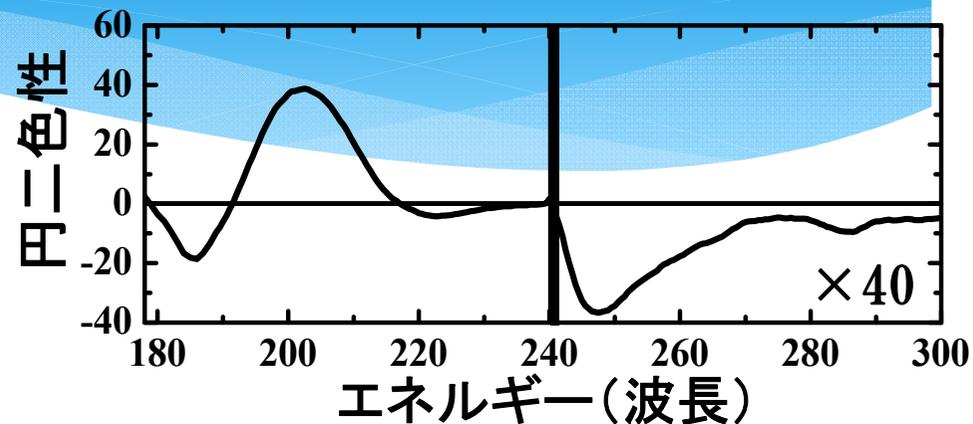
認知症の一種であり、脳内にアミロイドと呼ばれる蛋白質が蓄積することが原因で発症する。

透析アミロイド症:

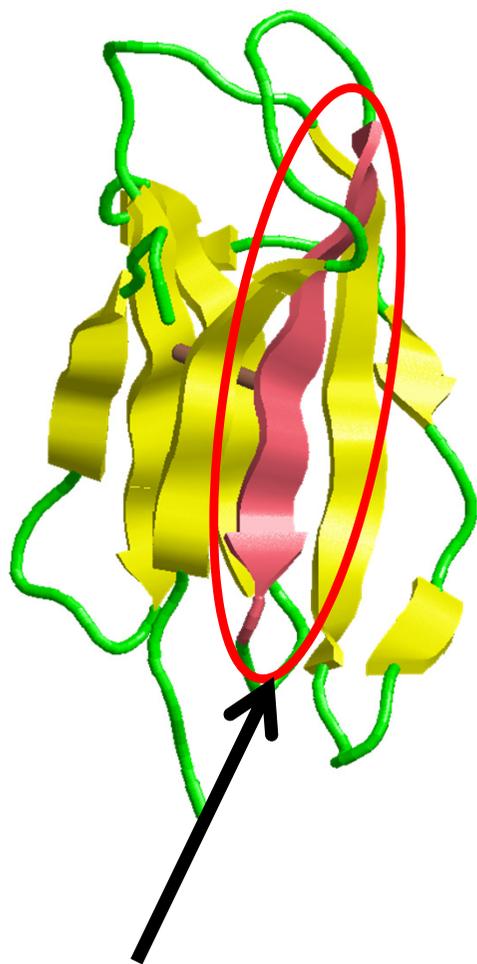
人工透析により体内で増加した β_2 ミクログロブリンがアミロイド線維を作り、神経や関節などに沈着して関節炎や麻痺などを起こす疾患。

研究手法と成果①

放射光を用いたアミロイド線維の近紫外から真空紫外領域の円二色性スペクトル



β_2 -ミクログロブリン
(透析アミロイド症の原因蛋白質)



線維化

実験

コアペプチド

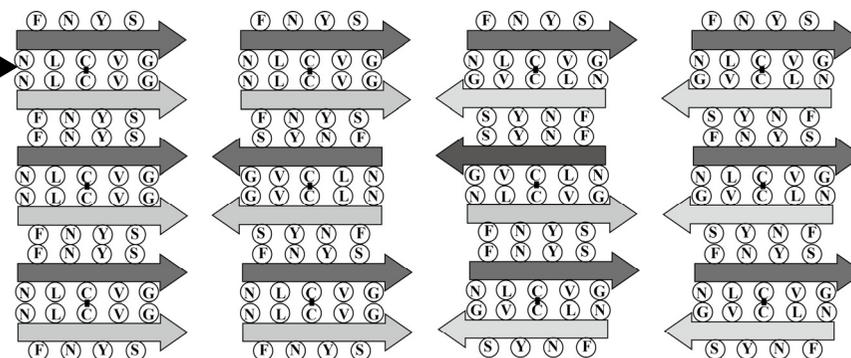
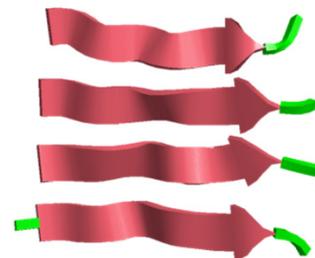
アミノ配列
NFLNCYVSG

理論

側鎖

側鎖の配向モデル

アミロイド線維の構造ユニット

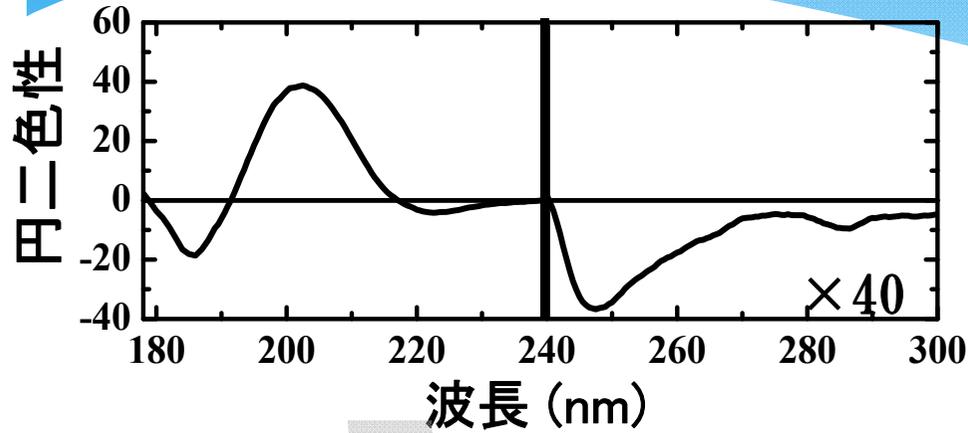


アミロイド線維形成の核心(コア)領域

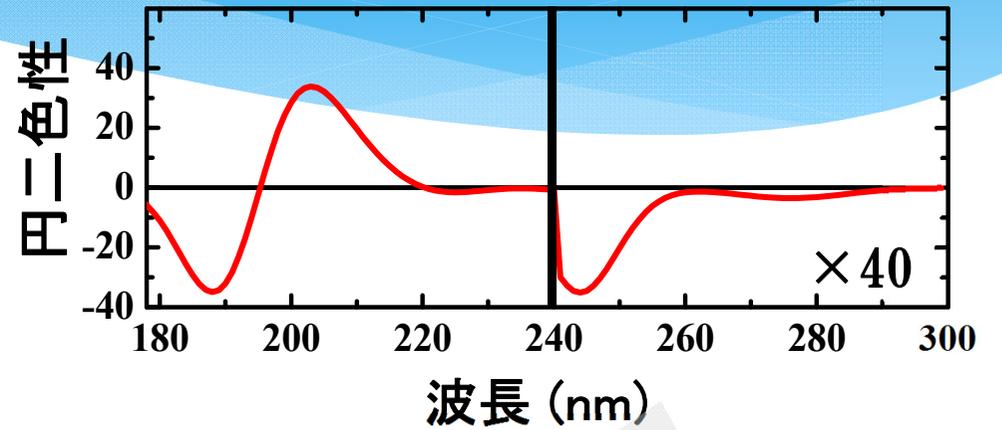
網羅的に線維モデル構造を構築

研究手法と成果②

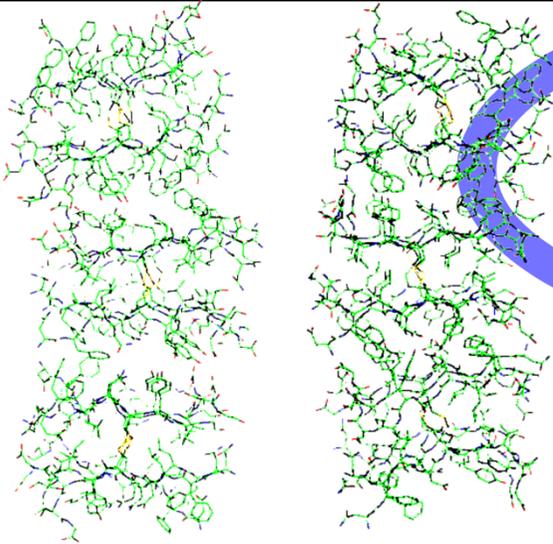
アミロイド線維の円二色性スペクトル



理論から得られた円二色性スペクトル

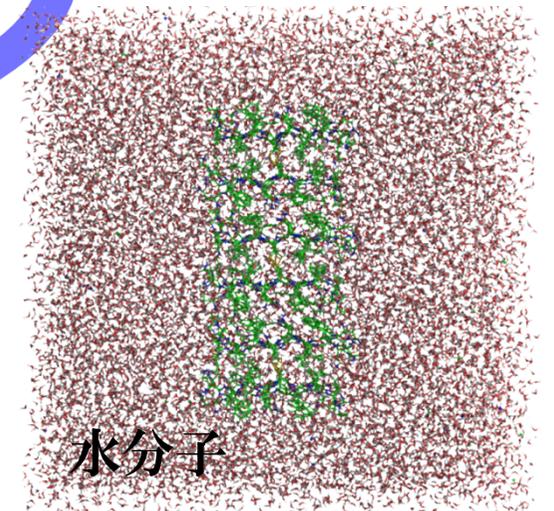


アミロイド線維の三次構造モデル



円二色性理論

分子動力学法から
溶液構造を再現



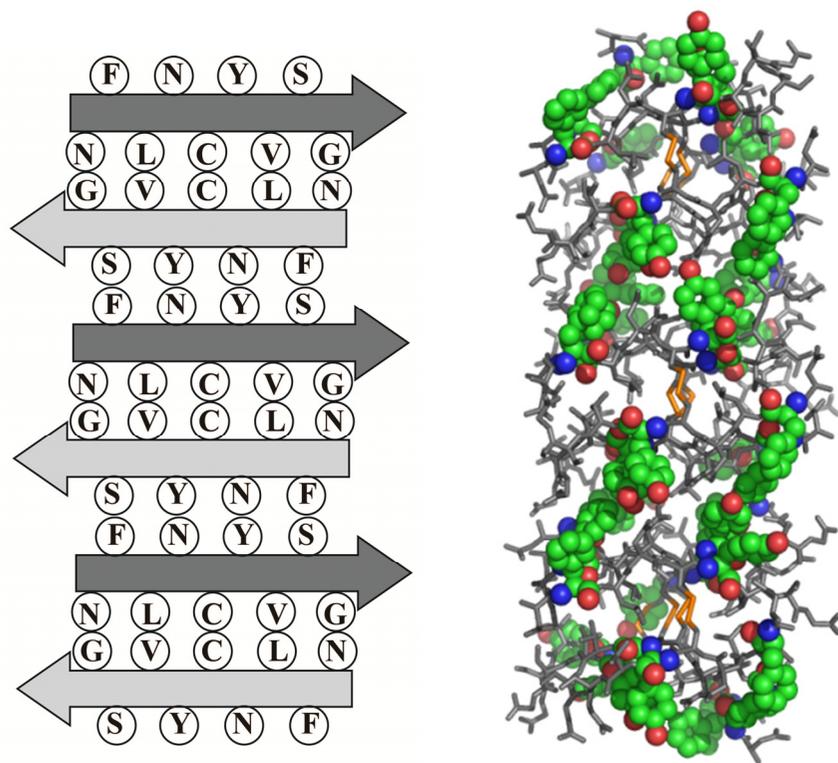
水分子

疾患原因物質であるアミロイド線維の放射光円二色性観測とその理論的解釈に世界で初めて成功

研究手法と成果③

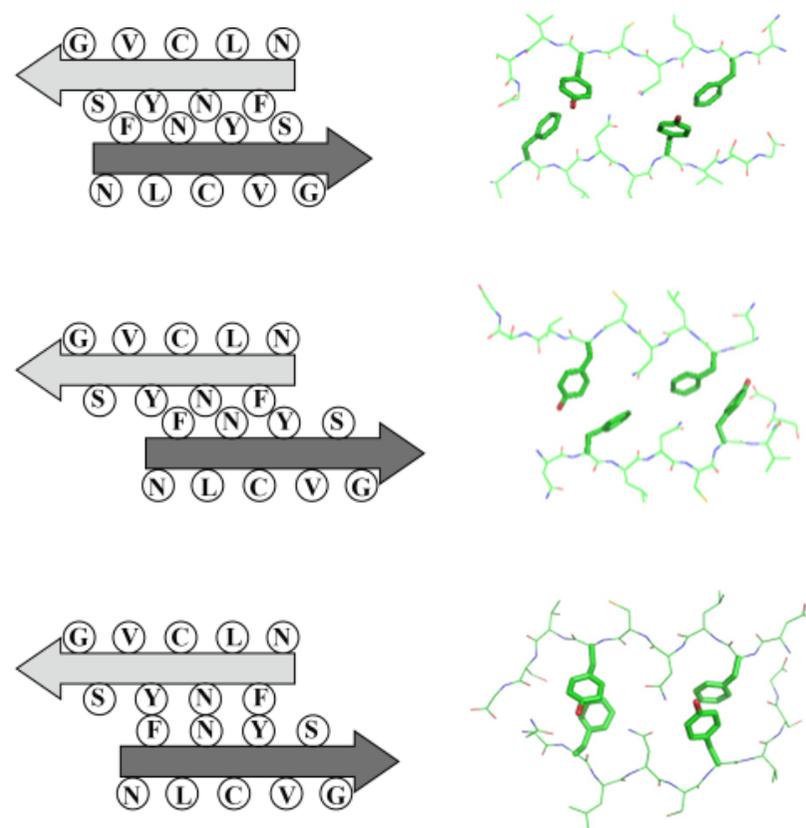
円二色性と理論的に合致するアミロイド線維の構造

逆平行シートの会合体



アミロイド線維内の芳香族アミノ酸側鎖(チロシン・フェニルアラニン)の微細構造

3種の会合パターンの解明



アミロイド線維の形態・毒性に重要な分子間微細構造を生理的条件下で初めて解明

→線維形成を阻害する薬物開発に応用

アミロイド線維の毒性と構造(新規治療法や診断法)

代表的なアミロイドーシス

β2ミクログロブリン	透析アミロイド症
アミロイドβタンパク質	アルツハイマー病
トランスサイレチン	家族性アミロイドポリニューロパチー
プリオン	プリオン病
プロラクチン	プロラクチン産生腫瘍
リゾチーム	遺伝的非ニューロパチー性アミロイドーシス
免疫グロブリンL鎖	全身性ALアミロイドーシス
ケラチン	皮膚限局性アミロイド
アミリン	2型糖尿病
ゲルソリン	フィンランド型アミロイドーシス
フィブリノーゲンα鎖	家族性腎アミロイドーシス
シスタチンC	脳アミロイドアンギオパチー
カルシトニン	甲状腺髄様癌において見出されるアミロイドーシス。
BRI2/ITM2B	BRI2/ITM2B遺伝子変異により生じる脳アミロイドーシス
アポAI	動脈硬化症
心房性ナトリウム利尿ペプチド	不整脈
血清アミロイドA	関節リウマチ



従来の手法では、溶液構造を
解明することは困難

円二色性には、微量でしかも短時間で容易に測定できる利点がある

患者から採取

アミノ酸配列の改変



円二色性で微細
溶液構造

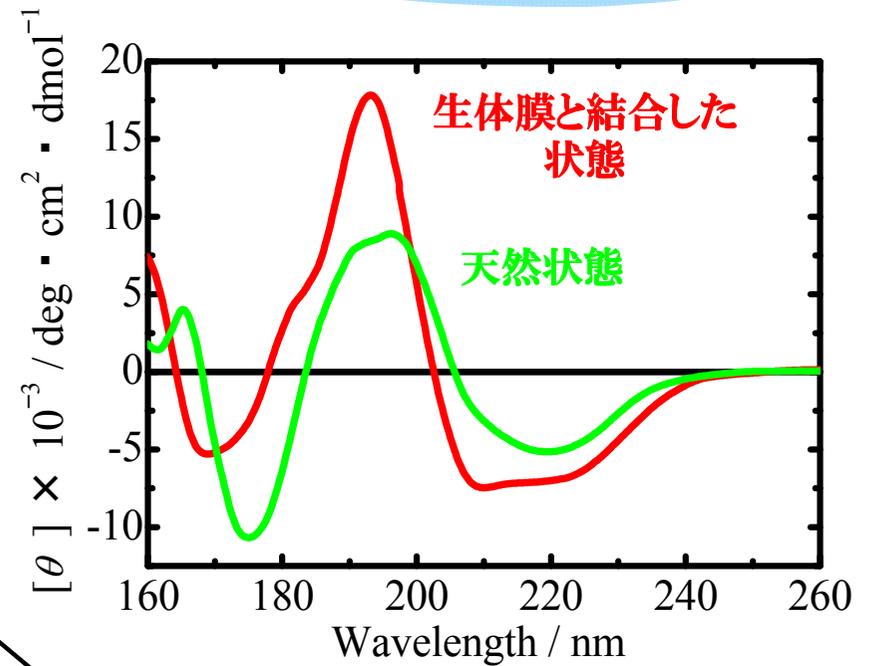
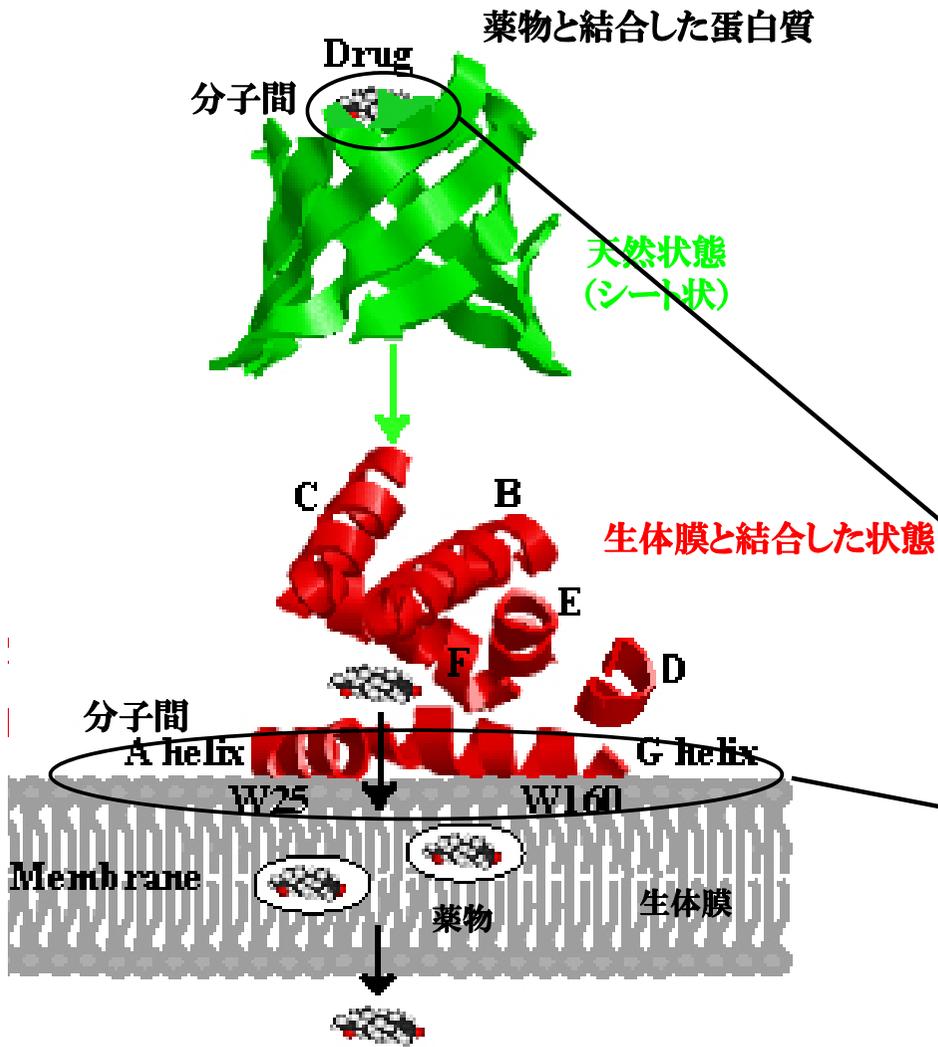
毒性

スーパーコンピュータ
(京)等も利用



毒性と構造との関連性についての迅速な解析
新規治療法や診断法の構築

蛋白質と生体膜の相互作用 (薬物輸送機構の解明)

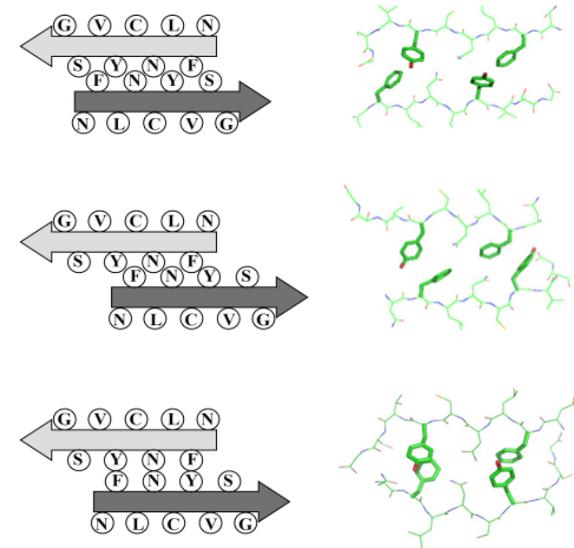
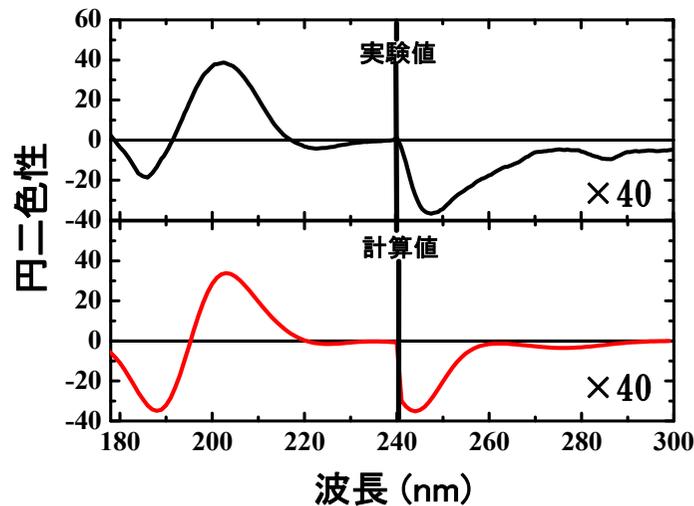


Biochemistry

蛋白質・薬物間及び蛋白質・生体膜間の分子構造の明確化で、
薬物輸送機構の解明

まとめ

- アルツハイマー病などの疾患原因物質であるアミロイド線維の放射光円二色性観測とその理論解析に世界で初めて成功
- アミロイド線維の形態・毒性に重要な分子間構造を生理的条件下で初めて解明



- 未解明な疾患原因蛋白質の溶液構造とその機能研究に強力な新手法となり、構造生物学にブレークスルーを与える。

蛋白質の構造・機能の解明，創薬の研究開発

- 新規治療法や診断法の開発
- 薬物輸送機構の解明
- 薬物設計

アメリカ化学会誌
Journal Physical
Chemistry B

2014年3月20に発行