

神経変性疾患の発症に関わるタンパク質ミスフォールディング

Conformational analysis of misfolded proteins in neurodegenerative diseases

ユーザー氏名: 古川 良明 Yoshiaki Furukawa, 安齋 樹 Itsuki Anzai (慶應義塾大学 Keio University)

実施機関担当者: 秋山 修志 Shuji Akiyama, 向山 厚 Atsushi Mukaiyama (分子科学研究所 Institute for Molecular Science)

Key Words

Protein misfolding, Neurodegenerative diseases, Small-angle X-ray scattering

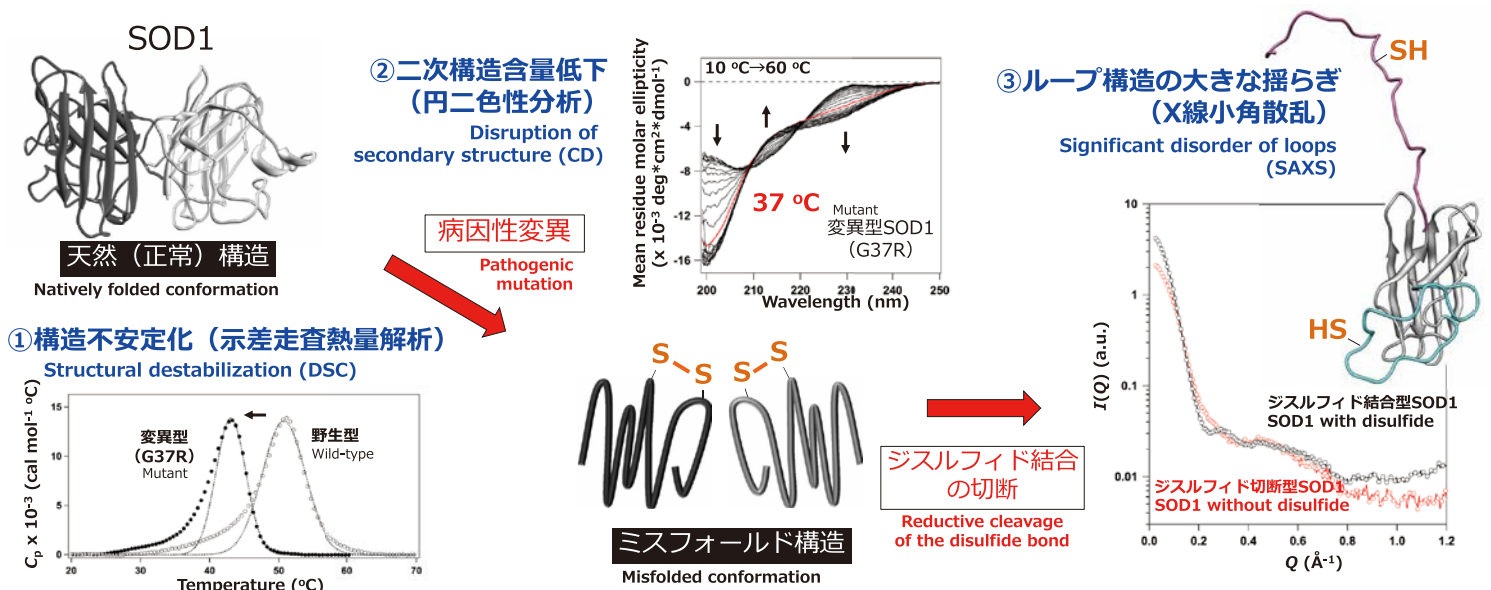
概要 / Overview

- 多くの神経変性疾患では、立体構造が異常となった（ミスフォールドした）タンパク質が脳・神経組織において蓄積していることが知られている。よって、ミスフォールディング機構の解明は、タンパク質の基礎的物性の理解とともに、疾患の治療法開発に向けた応用的展開が可能となる重要な研究題目である。本課題では、X線小角散乱法などを活用し、タンパク質がミスフォールディングする様子を捉えることで、疾患発症の機序を理解することを目的とした。
- Many neurodegenerative diseases are characterized by the accumulation of conformationally disordered (misfolded) proteins in brain and nervous tissues. The protein misfolding will hence be a quite important issue for the development of cures for the diseases as well as the understanding of basic properties of protein molecules. In this study, we analyzed the conformation of misfolded proteins by small-angle X-ray scattering and attempted to reveal the pathomechanism of the diseases.

筋萎縮性側索硬化症に見られるSOD1のミスフォールディング

Misfolding of SOD1 in amyotrophic lateral sclerosis (ALS)

- SOD1と呼ばれるタンパク質にアミノ酸変異が導入されることで、神経変性疾患（筋萎縮性側索硬化症）が発症し、ミスフォールドした変異型SOD1が脊髄の運動ニューロン内に蓄積する。
- Mutations in SOD1 proteins cause the neurodegenerative disease called amyotrophic lateral sclerosis (ALS), and one of major pathological hallmark of the SOD1-related ALS is abnormal accumulation of misfolded SOD1 proteins in motor neurons of spinal cords.
- 本課題では、分子研のナノプラット事業として提供されている「示差走査熱量分析(DSC)」「円二色性分光分析(CD)」「X線小角散乱計測(SAXS)」を最大限に活用し、SOD1タンパク質のミスフォールディング機序に関して、下図に示す3点を明らかにした。
- In this study, we examined the misfolding of SOD1 proteins by differential scanning calorimetry (DSC), circular dichroism (CD), and small-angle X-ray scattering (SAXS), all of which have been provided as a part of a Nanotechnology Platform in IMS. What we have found is summarized in the figure below.
- SOD1に変異が導入されると、①タンパク質構造の熱安定性が低下し、②体温付近では二次構造を失ったミスフォールド状態となることが分かった。さらに、細胞内の還元雰囲気では、③SOD1のジスルフィド結合が切断され、ループ構造が大幅に揺らぐ姿を捉えることに成功した。
- We have found that mutations in SOD1 ①decrease the thermal stability of the protein structure and ②disrupt the secondary structures at physiological temperature. Furthermore, ③the disulfide bond in mutant SOD1 is susceptible to reductive cleavage, and the loop regions become significantly disordered.
- 本課題で得られたほぼ全ての成果は、本事業がなければ成し得なかったもので、特に、X線小角散乱によるタンパク質の分子形状解析については、単なる装置利用に留まらず、サンプルの調製からデータの解析・解釈に至るまで手厚い支援を受け、上記の重要な成果を得ることができた。なお、以上の研究成果は、4報の原著論文として報告している (*Protein Sci* 2017; *Sci Rep* 2016; *J Biol Chem* 2016; *Front Mol Biosci* 2016)。
- We have published our proposing mechanism of SOD1 misfolding in four independent papers, all of which could not be accomplished without the support from this Nanotechnology Platform in IMS. In particular, the collaboration in our group is quite successful in the conformational analysis of SOD1 with SAXS throughout the experiments; from sample preparation to data analysis.



Contact

本研究・本支援設備等に関するお問い合わせ
Name: 古川 良明 (慶應義塾大学), 秋山 修志 (分子科学研究所)

分子・物質合成プラットフォーム全般のお問い合わせ
Name: 大原 三佳, 横山 利彦 (分子科学研究所)