

プリオンタンパク質天然状態のプリオンタンパク質異常化抑制作用

研究分担者：桑田一夫 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科

研究協力者：本田 諒 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科

研究要旨

プリオンタンパク質を安定化させる物質としては、これまで抗体や低分子シャペロンが知られているが、これ以外のプリオンタンパク質安定化機構を調べた。プリオンタンパク質のアミロイド形成反応を速度論的に調べることにより、アミロイド形成の直接的な基質として働くのはプリオンタンパク質の変性状態であり、その天然状態はアミロイド形成を抑制することが分かった。これらのことから、特定の構造を有する抗プリオンペプチドの設計可能性が示唆された。

A. 研究目的

これまで、プリオンタンパク質が異常化する際に、モルテングロビュール状態を経由することが分かっている。また、プリオンタンパク質を安定化させる物質として、抗体や低分子シャペロンがあったが、これ以外のプリオンタンパク質の安定化方法を、プリオンのアミロイド形成反応を詳細に解析することにより調べる。

B. 研究方法

リコンビナントプリオンタンパク質に超音波を照射し、自己複製能力を持つアミロイド線維を試験管内で生成した。次にアミロイド線維と正常型プリオンを混合し、アミロイド線維の複製速度を ThioflavinT を用いて測定した。さらに、平衡点と速度との相関を 264 点変化させ、それを酵素反応速度論を用いて解析した。

(倫理面への配慮)

該当なし

C. 研究結果

天然状態—変性状態の平衡点を天然状態側にシフトさせると、アミロイド複製速度が著しく低下した。また、天然状態が優位な条件下では基質阻害型の反応曲線が得られるが、変性状態が優位な条件下では、Michaelis-Menten 型の反応曲線が得られた。

D. 考察

PrP 天然状態は、アミロイド形成反応を非競合的又は不競合的に抑制する。

E. 結論

プリオンタンパク質のアミロイド形成反応を速度論的に調べることにより、アミロイド形成の直接的な基質として働くのはプリオンタンパク質の変性状態であり、その天然状態はアミロイド形成を抑制することが分かった。これらのことから、特定の構造を有する抗プリオンペプチドの設計可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ohhashi Y, Yamaguchi Y, Kurahashi H, Kamatari YO, Sugiyama S, Uluca B, Piechatzek T, Komi Y, Shida T, Müller H, Hanashima S, Heise H, Kuwata K, Tanaka M. Molecular basis for diversification of yeast prion strain conformation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 115(10):2389-2394, 2018
- 2) Yamaguchi KI, Honda RP, Elhelaly AE, Kuwata K. Acceleration of nucleation of prion protein during continuous ultrasonication. *J Biochem*. 2018 Feb 2. doi: 10.1093/jb/mvy015. [Epub ahead of print]
- 3) Honda R, Kuwata K. Evidence for a central role of PrP helix 2 in the nucleation of amyloid fibrils. *FASEB J*. 1: fj201701183RR, 2018
- 4) Endo S, Xia S, Suyama M, Morikawa Y, Oguri H, Hu D, Ao Y, Takahara S, Horino Y, Hayakawa Y, Watanabe Y, Gouda H, Hara A, Kuwata K, Toyooka N, Matsunaga T, Ikari A. Correction to Synthesis of Potent and Selective Inhibitors of Aldo-Keto Reductase 1B10 and Their Efficacy against Proliferation, Metastasis, and Cisplatin Resistance of Lung Cancer Cells. *J Med Chem*. 61(3):1380, 2018
- 5) Yamaguchi KI, Kuwata K. Formation and properties of amyloid fibrils of prion protein. *Biophys Rev*. 10(2): 517-525, 2017
- 6) Tran DP, Takemura K, Kuwata K, Kitao A. Protein-Ligand Dissociation Simulated by Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics. *J Chem Theory Comput*. 14(1): 404-417, 2018
- 7) Endo S, Xia S, Suyama M, Morikawa Y, Oguri H, Hu D, Ao Y, Takahara S, Horino Y, Hayakawa Y, Watanabe Y, Gouda H, Hara A, Kuwata K, Toyooka N, Matsunaga T, Ikari A. Synthesis of Potent and Selective Inhibitors of Aldo-Keto Reductase 1B10 and Their Efficacy against Proliferation, Metastasis, and Cisplatin Resistance of Lung Cancer Cells. *J Med Chem*. 60(20):8441-8455, 2017
- 8) Tahoun A, Masutani H, El-Sharkawy H, Gillespie T, Honda RP, Kuwata K, Inagaki M, Yabe T, Nomura I, Suzuki T. Capsular polysaccharide inhibits adhesion of *Bifidobacterium longum* 105-A to enterocyte-like Caco-2 cells and phagocytosis by macrophages. *Gut Pathog*. 9:27, 2017
- 9) Honda RP, Kuwata K. The native state of prion protein (PrP) directly inhibits formation of PrP-amyloid fibrils in vitro. *Sci Rep*. 7(1): 562, 2017
- 10) Endo S, Takada S, Honda RP, Müller K, Weishaupt JH, Andersen PM, Ludolph AC, Kamatari YO, Matsunaga T, Kuwata K, El-Kabbani

O, Ikari A. Instability of C154Y variant of aldo-keto reductase 1C3. Chem Biol Interact. 276:194-202, 2017

2. 学会発表

- 1) Kuwata K. A quantum clinic to revolutionize the internal medicine and surgery based on the thermodynamical principles, The 9th International Meeting on Biomolecules under Pressure(IMBP 2017), 青蓮会館 Kyoto, Japan. August 21-24, 2017

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

Kazuo Kuwata: MALEIC ACID SALT OF ANTI-PRION COMPOUND, METHOD FOR PRODUCING. THE SAME AND PHAMACEUTICAL COMPOSITION OF THE SAME ; Nov. 7, 2017(US 9,809,563 B2)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

