

アルツハイマー病に関わる膜蛋白質 APP の膜貫通部位の二量体化構造

宮下尚之^a, John E. Straub^b, 杉田有治^{a,c,d}

^a 理化学研究所, ^b ボストン大学, ^c BIRD JST, ^d CREST JST

miya@riken.jp

概要: アルツハイマー病の過程ではアミロイド(A) β ペプチドと呼ばれるある蛋白質の断片の凝集(繊維化)がニューロン細胞の外でおこり、老人斑として蓄積される。その元となる蛋白質はアミロイド前駆体蛋白質(APP)とよばれる生体膜に突き刺さっている蛋白質であるが、構造解析技術が上がってきている現在ですら、その形(立体構造)は原子レベルでわかっていない。最近では2つのAPP(野生型)がペア(二量体)を作る可能性のある事が実験により報告され、この蛋白質のたった2個のアミノ酸を入れ替えた(変異型)だけで、A β ペプチドがほとんど生成されなくなる事がわかってきた。本研究では野生型と変異型の二量体化したAPPの構造予測を行った。このような蛋白質の構造予測は場合の数が非常に多くなる事と、従来の方法では準安定状態に捕まり易く困難とされてきた。本研究では、機能に関わってくる生体膜付近の部分抜き出し、レプリカ交換分子動力学法を用いた。野生型と変異型の二量体化の起源について構造から分析した結果、野生型はGxxxGモチーフを介して二量体化している事がわかった。また、変異体の場合は疎水性相互作用による平行型の二量体化構造と、一つのグリシン残基を中心にX型になる二量体構造をとる事がわかった。この二量体構造の形(立体構造)の違いがA β ペプチドの生成のしやすさに関わってきているのではないかと考えられる。本研究で用いたレプリカ交換分子動力学法は並列化率がとても高い方法なので、将来的にはベタフロップス級コンピュータにて、大規模系の構造予測や機能予測が期待でき、様々な病気のメカニズムの理解に貢献できると思われる。

1 はじめに

アルツハイマー病は特定の脳細胞(ニューロン細胞)死がおこる病気で、最も患者の多い神経変性疾患の一つとして知られており、我々の生活の中でも無視できない病気の一つである。この病気の進行過程では、A β ペプチドの凝集と繊維化がニューロン細胞の外側でおこり、それが老人斑として蓄積される。従って、このA β ペプチドの生成に関する知見を深める事はアルツハイマー病を理解する上でとても重要である。

そのA β ペプチドは、約700個(残基)のアミノ酸できているAPPの β 部位(D₅₉₇)と γ 部位(G₆₃₄からT₆₃₉までのいずれか)が、 β 切断酵素と γ 切断酵素と呼ばれる酵素によって順に切断される事で生成される。APPはニューロン細胞の外側の生体膜に貫通して存在している膜蛋白質の一つである。A β ペプチドになる部分はAPPの細胞の外側部分から生体膜の中に至るたった四十数残基の部分で、その最初のアミノ酸残基はAPP中の597番目のアスパラギン酸(D₅₉₇)である。今後はこれを1番目の残基(D₁)として記載する。A β ペプチドは通常、V₄₀までの40残基のアミノ酸できているA β ₁₋₄₀が最も多く生成されるが、 γ 切断位置には幅がある為にしばしばA β ₁₋₃₈, A β ₁₋₄₂, A β

₁₋₄₃等が生成する。また、A β ₁₋₄₂はA β ₁₋₄₀より繊維構造を形成しやすい事が知られている。

そのA β ペプチドの元となる野生型のAPPの膜貫通部位近傍には5つのグリシン(G)があり、それらがG₂₅ xxxG₂₉ xxxG₃₃ xxxG₃₇ G₃₈と並んだ連続した3つのGxxxG配列(GxxxGモチーフ)を持っている。一般に、膜環境下でこのモチーフを持つヘリックスは、そのグリシンと相手側のグリシンとの間のC _{α} -H \cdots O型水素結合を介してペアを作る(二量体化する)可能性があると言われている。APPもGxxxGモチーフによる二量体化がおこる事が示唆されている。しかし最近の実験によると、二つのグリシン(G₂₉とG₃₃)をロイシン(L)に置き換えてGxxxGモチーフを無くした変異型でも野生型と同様に二量体を形成する事が報告されている。

また、このたった二つのアミノ酸が置きかわった変異型では γ 切断酵素による切断活性が下がる、即ちA β ペプチドの生成が激減する事が報告されている[1]。変異型の方が野生型より強く二量体化しているという報告もあり、 γ 切断酵素による切断活性の違いも含めて、APPのたった2残基の違いは一体何を引き起こしたのだろうか? 原子・分子レベルで理解する為に、膜貫通部位付近(A β

23-55)の APP の野生型と 2 残基をロイシン置換した変異型それぞれの二量体の構造予測を行った。

2 方法

本研究ではレプリカ交換分子動力学法 (REMD) [2]を用いて構造予測をした。この方法は、それぞれのレプリカで幅広いエネルギー空間上で酔歩が実現でき、広い構造空間上を幅広くサンプリングする事が可能になる。

具体的には温度等の条件が違うレプリカを複数個用意し各レプリカの分子動力学計算(MD)をそれぞれの条件にて行う。ある頻度で隣り合うレプリカ間のエネルギーを評価し、メトロポリス法の基準に従って隣同士の条件を交換するかどうかを決め実行する。この方法はレプリカ間の通信量が少ないので、並列化効率が非常に高い。また、大きな系になればなるほど数多くのレプリカを用意する必要があるが、レプリカ間の通信量は急激には増えないので、将来的に各レプリカの MD の並列化と組み合わせる事で高並列計算が期待でき、まさに次世代スーパーコンピュータ等の超並列計算機向きの手法であると言える。

ここでは温度範囲を 300K から 500K とし 32 レプリカ用いた。1 レプリカ/CPU として 32CPU で計算した。本計算では各レプリカにつき 22 ナノ秒、total では 704 ナノ秒の MD を行った。2 ピコ秒おきに隣あう温度を持つレプリカ同士の交換の評価をした。計算量の低減の為に蛋白質以外の部分に implicit model を用いた。

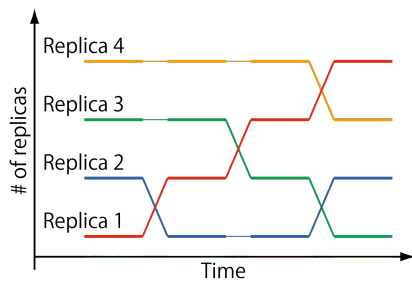


図 1 : レプリカ交換分子動力学法 の概念図

3 APP の膜貫通部位の二量体(野生型/変異型)の構造

図 2 には野生型、変異型共に代表的な構造を二つずつ掲載した(P1, P2, Q1, Q2)。野生型では G₃₃, G₃₇, と G₃₈ が、変異型はロイシン(L)等の疎水性残基と G₃₈ が二量体化に大きく寄与している事がわかった(図 2 野生型)。P1,P2 いずれにしる G_{xxx}G

モチーフに特徴的な C_α-H...O 型水素結合が二量体化の原動力になっている。

一方、変異体ではロイシン等の疎水性残基が向き合って二量体化したロイシンジッパー型 (図 2 Q1)になる。このペプチドには疎水性残基が多い為に向きに関係なく二量体化し易い。また、両方の G₃₈ が近接し、M₃₅O と C_α-H...O 型水素結合をつくる X 型の構造 (図 2 Q2)もとりうる事もわかった。どちらもヘリックス構造をよく保っており、野生型とは全く違う構造である事がわかった。

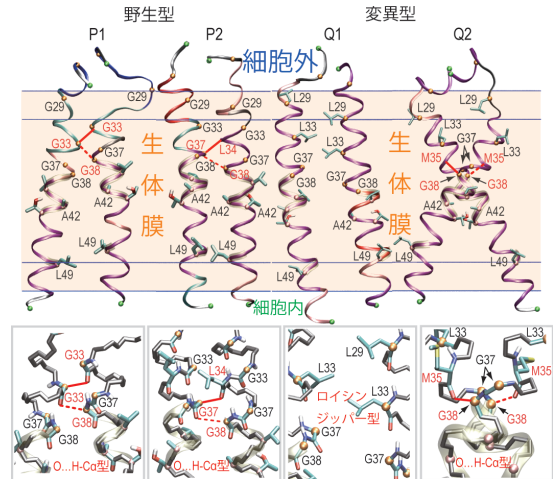


図 2 : 野生型と変異体の代表的な二量体化構造。

4 まとめ

広い構造空間の探索を可能とする REMD を用いる事により、高々アミノ酸 2 残基の置換によって全く異なる会合様式を取りうる事が明らかになった。その生物学的意味としては Aβ ペプチドを切り出す酵素である γ 切断酵素による切断部位 (γ 部位)の構造の違いとして現れている様である。

参考文献

- [1] P. Kienlen-Campard et al., 「Amyloidogenic processing but not amyloid precursor protein (APP) intracellular C-terminal domain production requires a precisely oriented APP dimer assembled by transmembrane GXXXG motifs」, J. Biol. Chem. **283**, (12), 7733-7744, 2008
- [2] Y. Sugita and Y. Okamoto, 「Replica-exchange molecular dynamics method for protein folding」, Chem. Phys. Lett., **314**, (1-2), 141-151, 1999