

博士論文要旨

論文題名：ヒトプリオンタンパク質の C-端領域の構造と性質に関するペプチド化学的研究

立命館大学大学院薬学研究科

薬学専攻博士課程

サカグチ ユウコ

坂口 裕子

プリオン病は、正常細胞タンパク質 (PrP^C) からプロテアーゼ耐性のアイソフォーム (PrP^{Sc}) へのミスフォールディングによって引き起こされる神経変性疾患である。この構造変化には、ヒスチジン残基への Cu²⁺ の結合が関与すると考えられている。しかしながら、PrP の凝集メカニズムは、溶解性や凝集性、そして立体構造や変異の多様性などの PrP の物理的特性を解析する必要があるため、明確にされていない。本研究では、構造変化と凝集における PrP の C-端領域の役割の解明を試みた。合成フラグメントペプチドである ヒト-PrP180-192 (hPrP180-192) と点変異体の hPrP180-192 V180I の物理的および生理学的特性を、円二色性スペクトル、高速液体クロマトグラフィー、AFFINIX QN μ 水晶振動子マイクロバランスおよびチオフラビン T 染色法を用いて、Cu²⁺ の影響を含めて検討した。hPrP180-192 と hPrP180-192 V180I の二次構造は、Cu²⁺ 非存在下の緩衝液中で random coil から β -sheet/ β -strand へ変化した。さらに、両ペプチドで分子間相互作用と凝集をみると、それらは Cu²⁺ によって抑制されることが判明した。しかしながら、凝集した hPrP180-192 と hPrP180-192 V180I に対する Cu²⁺ の効果は完全に異なっていた。すなわち、凝集した hPrP180-192 の二次構造は Cu²⁺ の添加により β -sheet から random coil に戻ったが、hPrP180-192 V180I は戻らなかった。以上より、hPrP180-192 を含む PrP の C-端領域は、PrP^C から PrP^{Sc} への構造変化に重要な役割を果たすと考えられた。さらに、V180I の点変異は、プリオン病の重大な原因の一つであると結論された。これらの結果は、PrP の凝集メカニズムにおける核依存重合説を支持している。

Abstract of Doctoral Dissertation

Title: Chemical study on structure and property of C-terminal region of human prion protein using synthetic fragment peptides

Doctoral Program in Pharmacy
Graduate School of Pharmacy
Ritsumeikan University

サカグチ ユウコ
SAKAGUCHI Yuko

Prion diseases are neurodegenerative disorders that are caused by misfolding of prion protein (PrP) from normal cellular prion protein (PrP^C) to protease-resistant isoforms (PrP^{Sc}). This conversion has been related to binding of Cu²⁺ to histidine residues, yet due to the physical properties of PrP, such as solubility, in vitro aggregation, and conformational or mutational diversity, the mechanisms through which aggregation occurs are not fully understood. In the present study, we characterized the roles of the C-terminal region of PrP in structural conversions and aggregation. Physical and physiological properties of the synthetic fragment peptide human-PrP180-192 (hPrP180-192) and the point mutated form hPrP180-192 V180I were evaluated using circular dichroism, high performance liquid chromatography, AFFINIX QNμ quartz crystal microbalance, and Thioflavin T staining in the presence and absence of Cu²⁺. Secondary structures of hPrP180-192 and hPrP180-192 V180I changed from random coil to β-sheet/ β-strand in Cu²⁺ free buffer. Moreover, we observed molecular interactions within fragment peptides, and self-aggregation was inhibited by Cu²⁺. However, the effects of Cu²⁺ on aggregated proteins differed between hPrP180-192 and hPrP180-192 V180I. Although the β-sheet secondary structure of aggregated hPrP180-192 was recovered to a random coil, no such recovery was observed with hPrP180-192 V180I. We conclude that the C-terminal region of PrP, including hPrP180-192, play important roles in the conversion of PrP^C to PrP^{Sc}. Additionally, point mutation of V180I is one of the critical causes of prion diseases. These results support the theoretical seed aggregation mechanism for PrP.