

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16058

研究課題名（和文）シヌクレインのアミロイド凝集性における種間差異の要因を計算化学的に解明する

研究課題名（英文）Elucidation of factors for interspecific differences in alpha-synuclein amyloid aggregation using computational chemistry

研究代表者

大滝 大樹 (OTAKI, Hiroki)

長崎大学・医歯薬学総合研究科（医学系）・助教

研究者番号：50632858

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：アルツハイマー病，パーキンソン病，プリオン病など神経変性疾患患者の神経細胞にはアミロイドの異常蓄積が見られる。アミロイドがシート構造を多く有することなど構造学的な知見は得られているものの，種間におけるアミノ酸配列の僅かな差異が凝集性に大きく影響する原因は分かっていない。本研究では，シヌクレインアミロイドおよびプリオンの部分アミロイドのモデル構築および分子動力学シミュレーションを行った。実験的に種間障壁に関与することが示唆されている疎水性残基に変異を入れて比較を行ったところ，構造安定性に大きな変化が見られた。これはアミロイド構造の安定性が疎水性相互作用に大きく左右されることを裏付けている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アミロイドは多くの神経変性疾患に関与している。アミノ酸配列の僅かな差異が凝集性に大きく影響する原因を明らかにすることは，構造生物学的な観点だけでなくアミロイドが関わる神経変性疾患の医学的な研究としても大きな意義がある。また，アミロイドの凝集性に関する理解が深まることにより，凝集を阻害する薬剤の開発など創薬分野への応用も期待される。

研究成果の概要（英文）：Abnormal accumulation of amyloids is observed in central nervous system of patients with neurodegenerative disorders such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and Prion diseases. It is well established that amyloid is predominantly composed of a  $\beta$ -sheet structure. However, how subtle differences in amino acid sequences between species affect the amyloid aggregation is still unclear. In this work, we analyzed the influence of different hydrophobic residues on the structures of an in-register parallel  $\beta$ -sheet amyloid of  $\alpha$ -synuclein and a local structure of human PrPSc using molecular dynamics simulation. We found that mutations equivalent to polymorphisms that cause transmission barriers substantially affect the stability of the local structures. Our results indicate that subtle differences of hydrophobic interaction network can considerably affect the structures of in-register parallel  $\beta$ -sheet amyloid.

研究分野：生物物理

キーワード：アミロイド シヌクレイン 分子動力学計算 疎水性相互作用 プリオン

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

タンパク質の機能発現には固有の立体構造形成が必須である。しかしタンパク質が誤って折り畳まれるとアミロイドと呼ばれる線維状の凝集体を形成する。アルツハイマー病・パーキンソン病 (PD) など神経変性疾患患者の神経細胞にアミロイドの異常蓄積が見られること、アミロイドがシート構造を多く有することは知られているが、その構造不均一性などから通常のタンパク質に用いられる構造決定手法の多くが適用できず、詳細な立体構造の決定は極めて難しい。そのためアミロイドの詳細な分子構造情報は少なく、変異により凝集性が大きく変化する原因など、アミロイドの分子構造と凝集性との関係は不明な点が多い。

このような中、2016年にPDの原因タンパク質と考えられている $\beta$ -シヌクレイン ( $\beta$ -Syn) のアミロイドの三次構造が固体 NMR により解明された。また、*in vitro* 実験では、種間により  $\beta$ -Syn の凝集性が大きく異なることが報告された。

### 2. 研究の目的

本研究では固体 NMR により明らかにされた三次構造をもとに  $\beta$ -Syn モデルアミロイドを構築し、分子動力学シミュレーションなどの計算化学手法を用いて、 $\beta$ -Syn における僅かなアミノ酸配列の違いが凝集性や構造安定性に及ぼす影響を調べることを目的とする。また、 $\beta$ -Syn 解析時に構築した手法を他のアミロイドにも適用し、解析手法の有効性を示す。

### 3. 研究の方法

(1) ヒト  $\beta$ -Syn を初期モデルとして、変異を導入したモデルアミロイドを作成し、分子動力学シミュレーションを実行した。得られたトラジェクトリからシート化傾向、構造ゆらぎ、水素結合・疎水性相互作用の存在割合を算出し、変異によりどのような相互作用が生じるか(失われるか)を調べた。

(2) 上記  $\beta$ -Syn アミロイドの解析で得られた知見をもとに、プリオンタンパク質の第 107-143 残基の配列を使用して部分アミロイドのモデルを作成した。種間障壁に参与することが実験的に示唆されている疎水性残基に変異を導入したモデル (G127V, M129V, I138M, M129V&I138M, A133V) を作成して分子動力学シミュレーションを行った。トラジェクトリ中に占める疎水性相互作用および水素結合の存在割合を算出し、Tukey 法による多重比較を行った。また、変異に伴う構造の変化も調べた。

### 4. 研究成果

#### (1) $\beta$ -Syn アミロイドの分子動力学計算と疎水性相互作用解析

本研究では  $\beta$ -Syn アミロイドの U 字ループ構造 (第 84-87 残基) に注目した。このような U 字型の構造は  $\beta$ -Syn 以外のアミロイドにも多く見られるため、本研究により得られた知見が他のアミロイドにも適用できる可能性がある。そこで、第 84 残基の Gly を Ile, Met, Leu などの疎水性残基に変更したモデルを作成し分子動力学シミュレーションを行った。その結果、G84M 変異体のシート化傾向が特に大きく、構造が安定化していた。構造解析の結果、これは M84 の側鎖が A89 や V82 と相互作用することで U 字ループ構造を安定化させていることが原因だと分かった。一方で G84I 変異体はシート化傾向が小さく U 字ループ構造が不安定化していた。ネットワーク解析で用いられるグラフ化の手法を導入し、疎水性相互作用のダイアグラムを作成したところ、どの変異型も第 84 残基と V82・A89 との疎水性相互作用が見られるが、G84M 変異型が一番強く疎水性相互作用を形成していることが分かった。これは Met の側鎖が他の疎水性残基に比べて長く、周辺の疎水性残基と相互作用しやすいためと考えられる。側鎖の僅かな長さの差が部分構造の安定性に大きく影響することが示唆された。

#### (2) プリオンタンパク質の部分アミロイドモデルの分子動力学計算

G127V 変異型では、シミュレーション中にアミロイド構造が大きく崩れた。これは、野生型と比べて多くの疎水性相互作用や水素結合が失われたことから裏付けられる。ヒトのプリオンタンパク質のアミロイドはクロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) と関係しているが、G127V 変異は CJD に感染し難くなることが分かっている。シミュレーションの結果から、G127V 変異型はアミロイドの構造の保持が難しく、蓄積が困難になることで CJD に感染し難くなる可能性が示唆された。

M129V 変異型では、全体的にアミロイド構造を保持していた。この変異は疎水性コアを大きく安定化することが分かっているが、シミュレーション結果も実験事実と矛盾しない。また、この変異型では野生型に比べて疎水性相互作用のバランスが大きく変化していることが分かった。これは、側鎖の長い Met から Val に変わることで、M/V129 が疎水性相互作用をする相手が V122 から A120 に変わったことによる構造変化に起因していることも明らかになった。また、M129V

変異により強くなった相互作用は、I138M 変異を導入することでより増強されることが分かった。これは、M129V 変異と I138M 変異が相性の良い変異であることを示している。

A133V 変異型でも野生型に比べて構造が安定化した。これは A118-V133 の疎水性相互作用が強くなり U 字型ループの「閉じ口」部分が安定化したことや、アミロイドの積層方向の同じ番号の疎水性残基間の相互作用が強くなることが原因であることが分かった。また、S132 については積層方向に水素結合 (Serine ladder) を形成しており、これも安定化に大きく寄与していることが明らかになった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Otaki Hiroki, Taguchi Yuzuru, Nishida Noriyuki	4. 巻 7
2. 論文標題 Conformation-Dependent Influences of Hydrophobic Amino Acids in Two In-Register Parallel $\beta$ -Sheet Amyloids, an $\alpha$ -Synuclein Amyloid and a Local Structural Model of PrPSc	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 31271 ~ 31288
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.2c03523	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Maki Toshihide, Zhou Zheyang, Irie Yukari, Matsunaga Takahide, Onodera Takae, Imamichi Shoji, Sasaki Yuka, Masutani Mitsuko, Otaki Hiroki, Sakuda Eri, Tanaka Yoshimasa, Murota Hiroyuki	4. 巻 210
2. 論文標題 Singlet-oxygen photosensitizers with a tetrad structure and a single BODIPY chromophore: An evidence for transition state stabilization of intersystem crossing	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Dyes and Pigments	6. 最初と最後の頁 110963 ~ 110963
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dyepig.2022.110963	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 大滝大樹	4. 巻 24
2. 論文標題 分子動力学計算によるアミロイド凝集状態の理論的解析	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 スーパーコンピューティングニュース	6. 最初と最後の頁 81 ~ 87
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Endo Yushiro, Koga Tomohiro, Otaki Hiroki, Furukawa Kaori, Kawakami Atsushi	4. 巻 227
2. 論文標題 Systemic lupus erythematosus overlapping dermatomyositis owing to a heterozygous TREX1 Asp130Asn missense mutation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 108732 ~ 108732
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clim.2021.108732	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mizuta Satoshi, Otaki Hiroki, Ishikawa Takeshi, Makau Juliann Nzemi, Yamaguchi Tomoko, Fujimoto Takuya, Takakura Nobuyuki, Sakauchi Nobuki, Kitamura Shuji, Nono Hikaru, Nishi Ryota, Tanaka Yoshimasa, Takeda Kohsuke, Nishida Noriyuki, Watanabe Ken	4. 巻 65
2. 論文標題 Lead Optimization of Influenza Virus RNA Polymerase Inhibitors Targeting PA-PB1 Interaction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 369 ~ 385
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jmedchem.1c01527	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大滝大樹	4. 巻 23
2. 論文標題 分子動力学シミュレーションによる自己炎症性疾患に関わるタンパク質の研究	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 スーパーコンピューティングニュース	6. 最初と最後の頁 28-34
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Endo Yushiro, Koga Tomohiro, Otaki Hiroki, Sasaki Daisuke, Sumiyoshi Remi, Furukawa Kaori, Tanaka Yoshimasa, Katsunori Yanagihara, Kawakami Atsushi	4. 巻 60
2. 論文標題 Idiopathic multicentric Castleman disease with novel heterozygous Ile729Met mutation in exon 10 of familial Mediterranean fever gene	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rheumatology	6. 最初と最後の頁 445 ~ 450
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/rheumatology/keaa269	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大滝大樹	4. 巻 21
2. 論文標題 分子動力学計算によるアミロイド凝集様態の理論的解析	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 スーパーコンピューティングニュース	6. 最初と最後の頁 47-53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Otaki Hiroki, Taguchi Yuzuru, Nishida Noriyuki	4. 巻 2019.12.25.888289
2. 論文標題 Molecular dynamics simulation of local structural models of PrPSc reveals how codon 129 polymorphism affects propagation of PrPSc	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2019.12.25.888289	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Otaki Hiroki, Taguchi Yuzuru, Nishida Noriyuki	4. 巻 758938
2. 論文標題 Conformation-dependent influences of hydrophobic amino acids in two in-register parallel - sheet amyloids, an -synuclein amyloid and a local structural model of PrPSc	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/758938	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Otaki Hiroki, Taguchi Yuzuru, Nishida Noriyuki	4. 巻 596742
2. 論文標題 In silico evidence of unique behaviors of methionine in an in-register parallel beta-sheet amyloid, suggestive of its possible contribution to strain diversity of amyloids	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/596742	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Makau Juliann Nzemi, Watanabe Ken, Otaki Hiroki, Mizuta Satoshi, Ishikawa Takeshi, Kamatari Yuji O., Nishida Noriyuki	4. 巻 12
2. 論文標題 A Quinolinone Compound Inhibiting the Oligomerization of Nucleoprotein of Influenza A Virus Prevents the Selection of Escape Mutants	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 337 ~ 337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/v12030337	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計22件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 大滝大樹
2. 発表標題 分子動力学計算を用いたDNA分解酵素の失活メカニズムの解明
3. 学会等名 東京大学情報基盤センター 2021年度「若手・女性利用者推薦」成果報告会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大滝大樹
2. 発表標題 分子動力学計算とネットワーク解析を用いたDNA分解酵素における変異の影響の解析
3. 学会等名 第128回日本物理学会九州支部例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大滝大樹
2. 発表標題 分子動力学計算を用いたDNA分解酵素の失活メカニズムの解明
3. 学会等名 JHPCN：学際大規模情報基盤共同利用・共同研究拠点 第14回シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroki Otaki
2. 発表標題 Analysis of the effects of mutations on the three prime repair exonuclease 1 using molecular dynamics simulation and network analysis
3. 学会等名 2022年日本バイオインフォマティクス学会年会・第11回生命医薬情報学連合大会（IIBMP2022）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大滝大樹
2. 発表標題 Molecular dynamics study of the three prime repair exonuclease 1 and its mutants
3. 学会等名 第60回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大滝大樹
2. 発表標題 分子動力学計算とネットワークグラフを用いたDNA分解酵素における変異の影響の解析
3. 学会等名 第36回分子シミュレーション討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大滝大樹
2. 発表標題 分子動力学シミュレーションと残基間相互作用ネットワークによるDNA分解酵素変異体の相互作用解析
3. 学会等名 日本化学会 第103春季年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大滝大樹
2. 発表標題 分子動力学計算とネットワーク解析を用いたDNA分解酵素における変異の影響の解析
3. 学会等名 第127回日本物理学会九州支部例会
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 Hiroki Otaki
2. 発表標題 Molecular Dynamics Simulations of DNA Exonuclease
3. 学会等名 CBI学会2021年大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大滝大樹
2. 発表標題 分子動力学計算を用いたDNA分解酵素における変異の影響の解析
3. 学会等名 第35回分子シミュレーション討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大滝大樹
2. 発表標題 分子動力学計算によるアミロイド凝集様態の理論的解析
3. 学会等名 東京大学情報基盤センター 2019年度（後期）「若手・女性利用者推薦」成果報告会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水田賢志, 大滝大樹, 渡邊健
2. 発表標題 インフルエンザRNAポリメラーゼを阻害するキノリノン誘導体の開発研究
3. 学会等名 日本薬学会 第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroki Otaki, Yuzuru Taguchi, Noriyuki Nishida
2. 発表標題 Computational study of the interaction and structural properties of $\alpha$ -synuclein amyloids
3. 学会等名 Asia Pacific Prion Symposium 2019 (APPS2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuzuru Taguchi, Hiroki Otaki, Noriyuki Nishida
2. 発表標題 Molecular dynamics simulation for investigation of strain diversity of prions
3. 学会等名 Asia Pacific Prion Symposium 2019 (APPS2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大滝大樹
2. 発表標題 分子動力学計算によるアミロイド凝集様態の理論的解析
3. 学会等名 東京大学情報基盤センター「若手・女性利用者推薦」制度 平成30年度インターン・後期採択課題 成果報告会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大滝大樹
2. 発表標題 分子動力学計算によるアミロイド凝集様態の理論的解析
3. 学会等名 JHPCN：学際大規模情報基盤共同利用・共同研究拠点 第11回 シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大滝大樹, 田口謙, 西田教行
2. 発表標題 全原子分子動力学シミュレーションによる シヌクレインアミロイドの構造解析
3. 学会等名 第7回日本アミロイドーシス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大滝大樹, 田口謙, 西田教行
2. 発表標題 分子動力学シミュレーションを用いた シヌクレインアミロイドの構造解析
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石川岳志, 大滝大樹, J. N. Makau, 渡邊健, 水田賢志, 鎌足雄司, 田中義正, 西田教行
2. 発表標題 計算化学を利用した薬剤耐性変異予測法の開発とオセルタミビル耐性インフルエンザウイルスでの検証
3. 学会等名 第72回日本細菌学会九州支部総会・第56回日本ウイルス学会九州支部総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西田教行, 田中義正, 石川岳志, 水田賢志, 大滝大樹, 鎌足雄司, 渡邊健
2. 発表標題 薬剤耐性RNAウイルス出現予測法の確立と迅速制御のためのインシリコ創薬
3. 学会等名 J-PRIDE研究成果発表会, 重症・難治性感染症の理解と予防・治療法の開発に向けて～若手研究者たちの挑戦～
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水田賢志, 大滝大樹, 渡邊健
2. 発表標題 インフルエンザRNAポリメラーゼPA-PB1蛋白質間相互作用阻害剤の開発研究
3. 学会等名 日本薬学会 第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鎌足雄司, 小林美穂, 石川岳志, 大滝大樹, J. N. Makau, 渡邊健, 西田教行
2. 発表標題 先回り創薬のための薬剤耐性変異予測とin vitro評価系の構築
3. 学会等名 第9回岐阜構造生物学・医学・論理的創薬シンポジウム
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Kiyoshi Yagi, Hiroki Otaki, Pai-chi Li, Bo Thomsen, Yuji Sugita (Yukihiro Ozaki (Ed.), Marek Januz Wojcik (Ed.), Jurgen Popp (Ed.))	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Wiley-VCH	5. 総ページ数 24
3. 書名 Molecular Spectroscopy: A Quantum Chemistry Approach (Chapter 5)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関