

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 5 月 17 日現在

機関番号：82675

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06118

研究課題名(和文) レーザー照射によるアミロイド線維の破壊機構を分子動力学シミュレーションで解明する

研究課題名(英文) Molecular dynamics simulation for the destruction mechanism of amyloid fibrils by laser irradiation

研究代表者

奥村 久士 (Okumura, Hisashi)

大学共同利用機関法人自然科学研究機構(機構直轄研究施設)・生命創成探究センター・准教授

研究者番号：80360337

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：タンパク質は本来正しく折りたたみ、生命にとって必要不可欠な機能を果たすが、時に凝集し病気を引き起こすことがある。これらのタンパク質凝集体に赤外自由電子レーザーを照射して破壊し、新しい治療法開発につなげようという試みが行われている。しかし、タンパク質凝集体が自由電子レーザーにより破壊される機構は分かっていなかった。本研究ではコンピュータを用いたシミュレーションによりその機構を解明した。さらにどのようなタンパク質凝集体は破壊しやすく、どのようなタンパク質凝集体が破壊しにくいのかも明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

タンパク質凝集体の引き起こす病気にはアルツハイマー病やハンチントン病、パーキンソン病など治療法が確立していない病気が多い。これらの大半の病気には対処療法しかなく、その原因を直接取り除く方法はない。赤外線レーザーを照射する方法は病気の原因に直接アタックするので、この方法が実用に至れば意義は大きい。これまでレーザー照射により病気の原因物質を除去できることは実験的に知られていたが、その理由は不明であった。これを明らかにしたのが本研究である。本研究により将来、治療に使えるかもしれない手法の理論的裏付けを与えることができた。

研究成果の概要(英文)：Proteins fold properly and perform essential functions for life. However, they sometimes aggregate and cause several diseases. Attempts are being made to destroy these protein aggregates by irradiating them with infrared free-electron lasers, leading to the development of new therapeutic methods. However, the mechanism by which protein aggregates are destroyed by laser irradiation has not been understood. In this study, the mechanism was elucidated by computer simulation. I also clarified which protein aggregates are easily destroyed and which protein aggregates are not easily destroyed.

研究分野：理論生物物理学

キーワード：分子動力学シミュレーション アミロイド線維 赤外線レーザー

1. 研究開始当初の背景

タンパク質は通常 1 つ 1 つが正しく折りたたまれ、生体内でその機能を発揮している。しかし、老化などの理由によりその濃度が高くなると凝集し、その構造を変化させる。球状に凝集したオリゴマーや線維上に凝集したアミロイド線維を形成し、本来の機能を有しないどころか、病気を引き起こすこともある。現在、約 40 種類の疾患がこれらのタンパク質凝集体が原因で発症することが分かっている。例えば、認知症の一つであるアルツハイマー病はアミロイド β ($A\beta$) ペプチドの凝集体が原因と考えられている。ポリアラニンの凝集体は眼咽頭型筋ジストロフィーや合多指症などの先天性疾患の原因であることが分かっている。

最近、赤外線レーザーを用いてこのようなタンパク質凝集体を破壊する実験がいくつか行われている。赤外線レーザー照射によるアミロイド線維の破壊メカニズムはこれまで次のように考えられてきた。タンパク質やペプチドは $C=O$ と $N-H$ の間で分子間水素結合を形成することにより強力に凝集している。この $C=O$ の伸縮振動の周波数に一致した赤外線レーザーを照射すると $C=O$ 伸縮振動が共鳴して増幅されるので、この分子間水素結合が切断され、アミロイド線維が破壊されると考えられていた。しかし、最近の実験でサンプルが湿っていると赤外線レーザー照射によりアミロイド線維を破壊できるが、乾燥しているとアミロイド線維をなかなか破壊できないことが明らかになった。この実験事実は水分子がアミロイド線維破壊に何か重要な役割を担っていることを示唆しているが、これまで考えられてきた赤外線レーザー照射によるアミロイド線維破壊メカニズムに水分子は登場していなかった。そこで水分子の役割を明らかにし、アミロイド線維の破壊メカニズムを解明するための非平衡分子動力学シミュレーションを行うこととした。

2. 研究の目的

本研究では赤外線レーザーがアミロイド線維を破壊するメカニズムを非平衡分子動力学シミュレーションにより解明する。さらに、複数の種類のアミロイド線維について研究を行い、どのようなタンパク質凝集体は赤外線レーザーで破壊しやすく、どのようなタンパク質凝集体は破壊しにくいのかを明らかにする。

3. 研究の方法

はじめに $A\beta$ のアミロイド線維について研究を行った。まず、シミュレーションで扱う $A\beta$ アミロイド線維のモデルにおける $C=O$ 伸縮振動の共鳴波数を決定するため、 $A\beta$ アミロイド線維の平衡分子動力学シミュレーションを行った。 $A\beta$ アミロイド線維のモデル構造を作成し、これを水溶液中に用意した。この系の温度圧力一定の分子動力学シミュレーションを行うことで分子間 β シート構造を形成しているアミノ酸残基の $C=O$ 伸縮振動の赤外吸収スペクトルを計算し、その共鳴波数を決定した。次にこの共鳴波数で時間変化する電場をかけることで赤外線レーザー照射を模した非平衡分子動力学シミュレーションを行った。電場は複数のパルスとして扱った [1]。

次にポリアラニンアミロイド線維についても同様に分子動力学シミュレーションを行い、その破壊過程およびその破壊されやすさを調べ、 $A\beta$ アミロイド線維の場合と比較検討した [2]。

4. 研究成果

この非平衡分子動力学シミュレーションにより、赤外線レーザー照射によるアミロイド線維破壊における水分子の役割が以下のように分かった [1]。図 1 に $A\beta$ アミロイド線維の構造と同時刻の電場強度を示す。図 1(a) では破線内に示すように 2 本の β ストランド間で 6 つの分子間水素結合が存在している。赤外線レーザーパルスが照射されるとこれらの水素結合は切断され (図 1(b))、このパルスの終わりまでほとんどが切断された (図 1(c))。しかし、これらの水素結合はレーザーパルスの照射後、自然に再形成された。この水素結合再形成の際に近傍の水分子が $A\beta$ ペプチドと水素結合を形成することがあったが (図 1(d))、この時はすぐに解離した。結局、次のレーザーパルスが照射される前に 2 本の β ストランド間の水素結合は完全に再形成された (図 1(e))。大抵はこのように $A\beta$ 分子間水素結合はレーザーパルスの照射の度に切断と修復を繰り返していたが、時に $A\beta$ ペプチド間の水素結合がレーザーパルスにより切断された直後 (図 1(f))、 $C=O$ と $N-H$ の間に水分子が入り込んでくることがあった (図 1(g) のハイライトした水分子)。この水分子は $A\beta$ ペプチドと水素結合を形成し、 $A\beta$ ペプチドの $C=O$ と $N-H$ の間の水素結合の再結合を妨げてしまった (図 1(h))。すると、別の水分子も $A\beta$ ペプチドの間に入り込み、 $A\beta$ ペプチドと水素結合を形成した (図 1(h) のもう一つのハイライトした水分子)。図 1(i) ではこれら 2 つの水分子のうち下のものは $A\beta$ ペプチドとの水素結合がいくつか切れているが、上のものは $A\beta$ ペプチドと複数の水素結合を維持している。下方の水分子が $A\beta$ ペプチドから離

れた後も、上方の水分子はこの場所に留まり $A\beta$ と水素結合を形成したままであった (図 1(j))。このように水分子が $A\beta$ ペプチド間の水素結合再形成を邪魔すると、他の水分子も次々とその隙間に入り込み (図 1(k))、最終的にアミロイド線維全体が破壊された (図 1(l))。このように赤外線レーザー照射によるアミロイド線維破壊においても水分子が重要な働きをしているため、試料が乾燥していると赤外線レーザーを照射してもアミロイド線維はなかなか破壊されないのである。

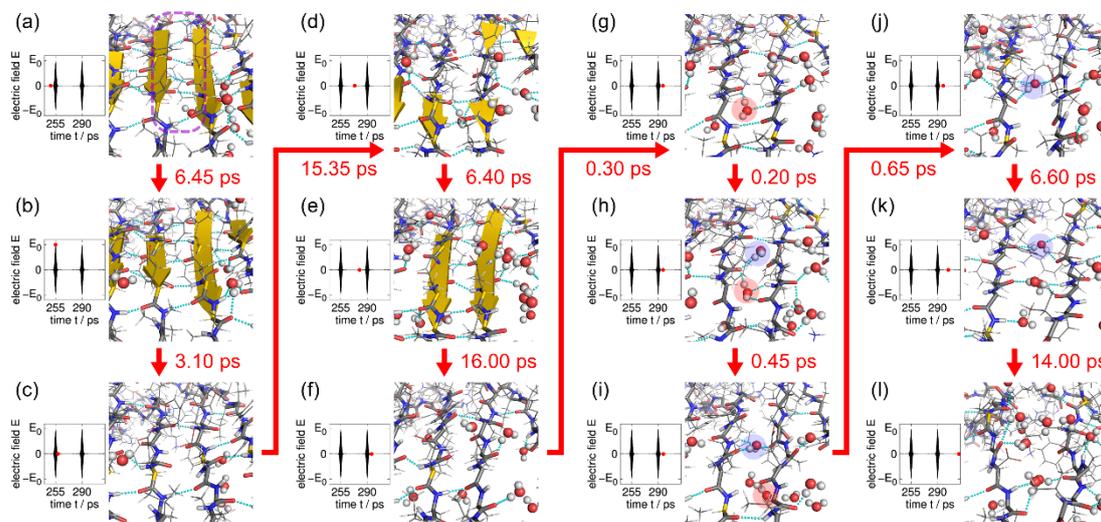


図 1. $A\beta$ アミロイド線維における水素結合の破壊過程のスナップショット。文献[1]より許可を得て転載。 Copyright 2021 American Chemical Society.

続いてポリアラニンアミロイド線維についても赤外線レーザーで破壊する過程の分子動力学シミュレーションを行った [2]。その破壊過程は $A\beta$ のアミロイド線維の破壊過程とよく似ていた。ただ、 $A\beta$ アミロイド線維の破壊と比べるとポリアラニンアミロイド線維の破壊の方が時間がかかることも分かった。 $A\beta$ アミロイド線維は 1000 発の赤外線レーザーパルス照射後に大体破壊されていた。これに対し、ポリアラニンアミロイド線維では 4000 発を要していた。この理由は次のように考えられる。

ポリアラニンはアラニンという疎水性アミノ酸残基ばかりからなるペプチドであるのに対し、 $A\beta$ は親水性残基や疎水性残基を含む多くのアミノ酸残基からなっている。一般的に疎水性残基の近くには比較的多くの水分子が存在しているので、 $A\beta$ アミロイド線維では親水性残基から水素結合が破壊される。一方、ポリアラニンアミロイド線維を構成するアミノ酸残基は全て同じアラニンであるため、赤外線レーザーパルス照射により $C=O$ と $N-H$ の間に隙間が生じて、そこにタイミングよく水分子が入り込む確率が低い。そのため $A\beta$ アミロイド線維に比べるとポリアラニンアミロイド線維は破壊されにくいと考えられる。また、これらの結果から一般的に他のアミノ酸配列からなるタンパク質凝集体についても、親水性アミノ酸残基の割合が少ないほど赤外線レーザーで破壊しにくいと考えられる。これらの結果をもとに赤外線レーザー照射をポリアラニン病患者に応用することを考えるとアルツハイマー病患者よりもポリアラニン病患者の方がより長時間の赤外線レーザー照射を必要とする可能性がある。ただし、これはペプチド凝集体の量やその場所にもよる。いずれにせよ、本研究によりポリアラニン凝集体も $A\beta$ 凝集体も赤外線レーザー照射で破壊できることが明らかになった。

参考文献

- [1] H. Okumura, S. G. Itoh, K. Nakamura, and T. Kawasaki: "Role of water molecules in the laser-induced disruption of amyloid fibrils observed by nonequilibrium molecular dynamics simulations", *J. Phys. Chem. B* 125 (2021) 4964–4976.
- [2] H. Okumura, S. G. Itoh, H. Zen, and K. Nakamura: "Dissociation process of polyalanine aggregates by free electron laser irradiation", *PLOS ONE* 18 (2023) e0291093 (15 pages).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Okumura Hisashi、Itoh Satoru G.、Zen Heishun、Nakamura Kazuhiro	4. 巻 18
2. 論文標題 Dissociation process of polyalanine aggregates by free electron laser irradiation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0291093
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0291093	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 Okumura Hisashi	4. 巻 127
2. 論文標題 Perspective for Molecular Dynamics Simulation Studies of Amyloid- Aggregates	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 10931 ~ 10940
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.jpcc.3c06051	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 Yagi-Utsumi Maho、Itoh Satoru G.、Okumura Hisashi、Yanagisawa Katsuhiko、Kato Koichi、Nishimura Katsuyuki	4. 巻 14
2. 論文標題 The Double-Layered Structure of Amyloid- Assemblage on GM1-Containing Membranes Catalytically Promotes Fibrillization	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACS Chemical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 2648 ~ 2657
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acscchemneuro.3c00192	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 奥村久士	4. 巻 33
2. 論文標題 超音波と赤外線レーザーによるアミロイド線維の破壊を分子動力学シミュレーションで見る	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 高圧力の科学と技術	6. 最初と最後の頁 76 ~ 82
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 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 Hisashi Okumura and Satoru G. Itoh	4. 巻 27
2. 論文標題 Molecular Dynamics Simulation Studies on the Aggregation of Amyloid- Peptides and Their Disaggregation by Ultrasonic Wave and Infrared Laser Irradiation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 2483 (29 pages)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules27082483	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 奥村久士	4. 巻 29
2. 論文標題 赤外自由電子レーザーによるアミロイド線維破壊の分子動力学シミュレーション	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 レーザー加工学会誌	6. 最初と最後の頁 160-165
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 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 H. Okumura, S. G. Itoh, K. Nakamura, and T. Kawasaki	4. 巻 125
2. 論文標題 Role of water molecules in the laser-induced disruption of amyloid fibrils observed by nonequilibrium molecular dynamics simulations	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Phys. Chem. B	6. 最初と最後の頁 2361-2368
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.0c11491	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 -

〔学会発表〕 計25件 (うち招待講演 24件 / うち国際学会 13件)

1. 発表者名 Hisashi Okumura
2. 発表標題 Generalized-ensemble and nonequilibrium molecular dynamics simulations of protein aggregates
3. 学会等名 Asia and Pacific Conference of Theoretical and Computational Chemistry (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hisashi Okumura
2. 発表標題 Protein aggregation and disaggregation by generalized-ensemble and nonequilibrium molecular dynamics simulations
3. 学会等名 4th International Conference on Materials Research and Innovation (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hisashi Okumura
2. 発表標題 Disaggregation of amyloid- aggregates observed by nonequilibrium molecular dynamics simulations
3. 学会等名 18th International Conference of Computational Methods in Sciences and Engineering (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥村久士
2. 発表標題 病気の原因となるタンパク質の分子動力学シミュレーション
3. 学会等名 企業研究会第36期CAMMフォーラム (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 奥村久士
2. 発表標題 生体機能に重要な分子の全原子分子動力学シミュレーション
3. 学会等名 Biothermology Workshop 2022 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥村久士
2. 発表標題 アミロイド線維の非平衡分子動力学シミュレーション
3. 学会等名 山形大学理学部 離散数理セミナー (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥村久士
2. 発表標題 非平衡分子動力学シミュレーションで見る極限環境下におけるアミロイド線維破壊
3. 学会等名 第63回高圧討論会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥村久士
2. 発表標題 アミロイド ペプチド凝集体の非平衡分子動力学シミュレーション
3. 学会等名 Mie Meeting of Quantum Science (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hisashi Okumura
2. 発表標題 Molecular dynamics simulation of disease-related biomolecules
3. 学会等名 2nd International Conference on Materials Research and Innovation (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hisashi Okumura
2. 発表標題 Role of water molecules and helix-structure stabilization in the laser-induced disruption of amyloid fibrils observed by nonequilibrium molecular dynamics simulations
3. 学会等名 Skype seminar (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 奥村久士
2. 発表標題 病気に関係する生体分子の分子動力学シミュレーション
3. 学会等名 生理学研究所ネットワーク型研究加速事業報告会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥村久士
2. 発表標題 新型コロナウイルスの増殖とアルツハイマー病の発症に関するタンパク質の分子動力学シミュレーション
3. 学会等名 スーパーコンピュータワークショップ2021 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥村久士
2. 発表標題 分子動力学シミュレーションで見る赤外自由電子レーザーによるアミロイド線維の破壊
3. 学会等名 第35回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム 企画講演：赤外自由電子レーザーによる物質研究の現状と未来展望 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥村久士
2. 発表標題 アミロイド ペプチドの凝集と解離の分子動力学シミュレーション
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hisashi Okumura, Satoru G. Itoh, Kazuhiro Nakamura, Takayasu Kawasaki
2. 発表標題 Nonequilibrium molecular dynamics simulation to reveal a role of water molecules in laser-induced disruption of amyloid brils
3. 学会等名 XXXI IUPAP Conference on Computational Physics (CCP2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 奥村久士, 伊藤暁, 中村和裕, 川崎平康
2. 発表標題 分子動力学法で調べた赤外自由電子レーザーによる アミロイド線維の破壊とヘリックス構造の安定化
3. 学会等名 第35回分子シミュレーション討論会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hisashi Okumura
2. 発表標題 Molecular dynamics simulation for the causative substance of Alzheimer's disease
3. 学会等名 5th International Conference on Materials Research and Innovation (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hisashi Okumura
2. 発表標題 Amyloid-fibril dissociation observed by nonequilibrium molecular dynamics simulation
3. 学会等名 The 16th Eurasia Conference on Chemical Sciences (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hisashi Okumura
2. 発表標題 Disease-related proteins studied by molecular dynamics simulations
3. 学会等名 2023 ACS Global Innovation Imperatives - 7th International Conference on Computation for Science and Technology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hisashi Okumura
2. 発表標題 Key factors for aggregation and disaggregation of amyloid- peptides revealed by molecular dynamics simulations
3. 学会等名 19th International Conference of Computational Methods in Sciences and Engineering (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hisashi Okumura
2. 発表標題 Aggregation and disaggregation of amyloid- peptides observed by all-atom molecular dynamics simulations
3. 学会等名 The 26th International Annual Symposium on Computational Science and Engineering (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hisashi Okumura
2. 発表標題 Replica-permutation and nonequilibrium molecular dynamics simulations for protein aggregates
3. 学会等名 Biomolecules and Nanostructures 8 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 奥村久士
2. 発表標題 All-atom molecular dynamics simulations for the formation and dissociation of amyloid- aggregates / アミロイド 凝集体の形成と解離の全原子分子動力学シミュレーション
3. 学会等名 第61回日本生物物理学会年会シンポジウム「Liquid-liquid phase separation and amyloid formation driven by dynamic solution environments / 動的溶液環境が駆動する生体内液液相分離とアミロイド線維化」(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 奥村久士
2. 発表標題 中赤外レーザーによるアミロイド 凝集体の選択的破壊
3. 学会等名 多元技術融合光プロセス研究会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 奥村久士
2. 発表標題 コンピュータシミュレーションで見るアルツハイマー病原因物質の分子動画
3. 学会等名 第32回高速分子動画オンラインセミナー (招待講演)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Hisashi Okumura, Takayasu Kawasaki, and Kazuhiro Nakamura	4. 発行年 2023年
2. 出版社 Academic Press	5. 総ページ数 32
3. 書名 Probing protein misfolding and dissociation with an infrared free-electron laser, Methods in Enzymology, Volume 679 "Integrated Methods in Protein Biochemistry: Part B", Chap. 3	

〔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
---------	---------