

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：63903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24740296

研究課題名(和文) 計算機シミュレーションで探るアミロイドベータペプチドのオリゴマー形成過程

研究課題名(英文) Oligomerization of amyloid beta-peptides studies by computer simulations

研究代表者

伊藤 暁 (Itoh, Satoru)

分子科学研究所・理論・計算分子科学研究領域・助教

研究者番号：90595381

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円

研究成果の概要(和文)：新たなシミュレーション手法として、レプリカ置換法及びハミルトニアンレプリカ置換法の開発に成功した。これらの手法を用いることで従来のシミュレーション手法と比較して生体分子の効率的な構造探索が可能となった。これらの手法を用いてアミロイドベータペプチドのオリゴマー形成過程を原子レベルで調べた結果、アミロイドベータペプチド分子同士が近付くとベータ-ヘアピン構造が増加することが分かった。このような分子内ベータ-シート構造が存在すると、さらに分子同士が近付いた時にアミロイド線維中で見られるような分子間ベータ-シート構造が形成されやすいことが分かった。

研究成果の概要(英文)：I had developed new simulation methods, the replica-permutation method and the Hamiltonian replica-permutation method. By using these methods, efficient conformational sampling for biomolecules can be realized in comparison with existing simulation methods. I had studied the oligomerization process of amyloid-beta peptides by these new methods. As a result, it was shown that beta-hairpin structures were increased when the amyloid-beta peptides came close. When the amyloid-beta peptides got close sufficiently, intermolecular beta-sheet structures as seen in amyloid fibrils were readily created in the presence of intramolecular beta-sheet structures.

研究分野：生物物理

キーワード：アミロイド線維形成 分子シミュレーション

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病はアミロイドペータペプチド (Aβ) が凝集して不溶性のアミロイド線維を形成することで引き起こされると考えられている。アミロイド線維形成の初期段階では、Aβ のオリゴマーが形成される。しかし、このオリゴマーがどのような構造なのか、またどのように形成されるのかということは未だに明らかにされていない。

現在、Aβ のオリゴマー形成過程を調べるために様々な試みがなされており、実験だけでなく計算機シミュレーションを用いた研究も盛んにおこなわれている。しかしながら、計算機シミュレーションを用いた研究では、Aβ のオリゴマー形成過程が非常に遅い過程であるために原子レベルでの研究は大変困難である。この問題を解決するためにはタンパク質などの生体分子に対する効率的なシミュレーション手法の開発が不可欠である。

私は近年新たなシミュレーション手法を開発することによって、陰的溶媒モデルに対する Aβ の C 末端フラグメントの二量体形成過程を原子レベルで明らかにすることに成功した。より詳細なオリゴマー形成過程を知るためには陽的溶媒モデルを用いた原子レベルのシミュレーションを行う必要がある。

2. 研究の目的

これまで Aβ に関する原子レベルの研究として主に Aβ 1 分子のみを用いたシミュレーション、あるいは初期構造として実験で示唆されたアミロイド線維構造を用いたシミュレーションが行われてきた。しかし、Aβ のオリゴマー形成過程を詳細に調べるためには、このような間接的な研究手法ではなく、ランダムな初期構造からオリゴマーが形成される過程を計算機上で直接観測する必要がある。

また、私の先行研究では陰的溶媒モデルを採用していたが、より信頼性の高い結果を得るためには陽的溶媒モデルを用いる必要がある。しかしながら、従来のシミュレーション手法では Aβ のオリゴマー形成過程が非常に遅い過程であるために陽的溶媒モデルを用いた研究は大変困難である。そこで、生体分子に対するより効率的なシミュレーション手法の開発を行い、陽的溶媒モデル中の Aβ に対するオリゴマー形成過程の解明を目的とした。これにより、Aβ のオリゴマー形成、それに続くアミロイド線維形成を阻害する薬の開発の糸口を得られるものと思われる。

3. 研究の方法

(1) レプリカ置換法

生体分子に対する効率的構造サンプリングを実現するためにレプリカ置換法の開発を行った。レプリカ置換法では対象となる系のレプリカを用意し、それぞれのレプリカに異なる温度を割りあてる。一般に、 M 個のレプリカに対するレプリカ置換法を実行す

ることを考える。このとき、レプリカ置換法における状態は $X_\alpha = \{x_1^{[i(1)]}, \dots, x_m^{[i(m)]}, \dots, x_M^{[i(M)]}\}$ で表わされる。

ここで、上付きの添え字 $i(m)$ は下付きの添え字 m に対する置換操作を行う関数であり、上付き・下付きの添え字はそれぞれレプリカと温度を示す。また、 $x_m^{[i]} \equiv (q^{[i]}, p^{[i]})_m$

で、 q, p は座標と運動量を表わす。さらに、 α は M 個のレプリカと M 個の温度の全ての組み合わせに対するラベルで、 $\alpha = 1, \dots, M!$ である。例えば、レプリカが 3 個の場合は図 1 に示したように $3! = 6$ 個のレプリカと温度の組み合わせが考えられる。状態 X_α に対する重みは

$$w(X_\alpha) = \prod_{m=1}^M \exp\{-\beta_m H(x_m^{[i(m)]})\}$$

で与えられる。ここで、 $\beta_m = 1/k_B T_m$ で k_B はボルツマン定数、 T_m は温度、 H はハミルトニアンを表わす。



図 1 レプリカ 3 個に対するレプリカと温度の全組み合わせ。

レプリカ置換法では、シミュレーション中にレプリカと温度の組み合わせを入れ替えるレプリカ置換トライアルを諏訪・藤堂法により行う。このレプリカ置換トライアルによってレプリカと温度の組み合わせが α から β へ遷移する確率 $P(X_\alpha \rightarrow X_\beta)$ は

$$P(X_\alpha \rightarrow X_\beta) = \frac{v(X_\alpha \rightarrow X_\beta)}{w(X_\alpha)}$$

で与えられる。 $v(X_\alpha \rightarrow X_\beta)$ は組み合わせ α から β への総確率流であり、諏訪・藤堂法では

$$v(X_\alpha \rightarrow X_\beta) = \max\left[0, \min\left[\Delta_{\alpha\beta}, A_{\alpha\beta}, w(X_\alpha), w(X_\beta)\right]\right],$$

$$A_{\alpha\beta} \equiv w(X_\alpha) + w(X_\beta) - \Delta_{\alpha\beta}$$

$$\Delta_{\alpha\beta} \equiv S_\alpha - S_{\beta-1} + w(X_1),$$

$$S_\alpha \equiv \sum_{\gamma=1}^{\alpha} w(X_\gamma),$$

$$S_0 \equiv S_{M!}$$

と計算される。ただし、ここで状態 X_1 に対する重み $w(X_1)$ が全ての重みの中で最大であるとしている。

このようなレプリカ置換トライアルをシミュレーション中に繰り返し行うことで、図2に示すようにレプリカが温度空間を効率的に遷移する。これにより、シミュレーションが自由エネルギー極小状態に捕らわれることなく効率的な構造サンプリングが実現できる。

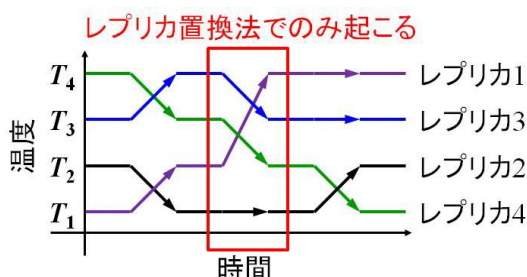


図2 レプリカ置換法の概略図。各レプリカが占有する温度の時間発展を示す。

(2) ハミルトニアンレプリカ置換法

ハミルトニアンレプリカ置換法では対象系のハミルトニアンにパラメータ λ を導入し、温度ではなくこのパラメータをレプリカ間で置換する。パラメータ置換は諏訪・藤堂法を用いて行う。

ハミルトニアンレプリカ置換法の一つであるクーロンレプリカ置換法では水中のタンパク質系に対し、タンパク質内のクーロンポテンシャルが

$$V_\lambda(q) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{(\lambda Q_i)(\lambda Q_j)}{r_{ij}}$$

となるように各原子の静電荷 Q にスケールパラメータ λ を導入する。ここで、 q はタンパク質内の原子の座標、 i, j はタンパク質内の原子、 r_{ij} は原子 i, j の間の距離、 ϵ_0 は真空の誘電率を表わす。

4. 研究成果

(1) レプリカ置換法とレプリカ交換法のサンプリング効率の比較

新しく開発したレプリカ置換法と生体分子に対する効率的サンプリングを実現する手法として知られているレプリカ交換法のサンプリング効率の比較を行った。系として水中の C-peptide を用いた。水中の C-peptide は温度 318 K 以下で α ヘリックス構造をと

ることが知られており、Glu2 と Arg10 の側鎖間の塩橋が α ヘリックス構造を安定化していることが知られている。

図3はレプリカがある温度から別の温度への遷移する確率を示す。図3から、レプリカ置換法ではレプリカ交換法と比較してレプリカが頻りに温度遷移をしていることが分かる。このように、レプリカ置換法では温度空間の効率的なサンプリングが実現されており、自由エネルギー極小状態に捕らわれることなくシミュレーションを実行できる。

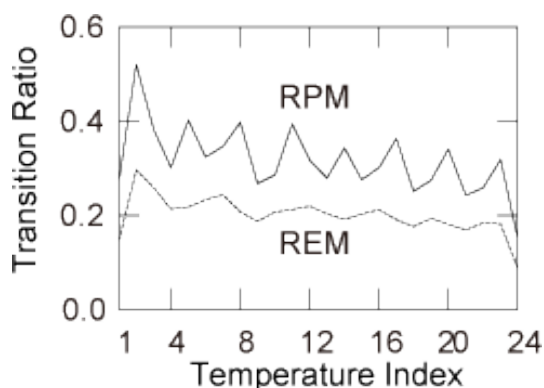


図3 レプリカの温度遷移の確率。RPM はレプリカ置換法、REM はレプリカ交換法を表わす。

(2) C-peptide のフォールディング経路

レプリカ置換法の結果から水中の C-peptide のフォールディング経路を明らかにすることに成功した。図4にフォールディング経路を示す。C-peptide はランダムな構造(図4 D)からまず Glu2 と Arg10 の側鎖間の塩橋を作り(図4 B)、その後 α ヘリックス構造(図4 A)を形成することが分かった。

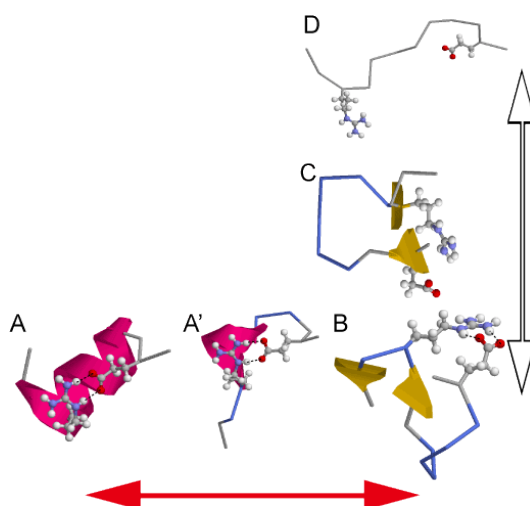


図4 水中の C-peptide のフォールディング経路。

(3) β フラグメントの二量体形成過程

レプリカ置換法を拡張したハミルトニアンレプリカ置換法を用いて、水中の β フラ

グメントの二量体形成過程を調べた。A β フラグメントとしてA β の29番目から42番目の残基からなるA β (29-42)を用いた。この部分はA β のアミロイド線維形成を促進する部分であり、このフラグメントのみでアミロイド線維を形成することが実験的に知られている。

図5(左)に二つのA β (29-42)の間の距離に対する二次構造を作っている残基の数の変化を示す。この図から分子が近づくと β -ヘアピン構造が増加し、さらに近づくと分子間 β -シート構造が増加することが分かる。 β -ヘアピン構造が増加した理由は、図5(右)に示すように β -シート構造を作っている残基の疎水性側鎖間の分子内コンタクトが別の分子の疎水性側鎖との分子間コンタクトによって安定するためであることが分かった。また、分子が近づくことにより形成される分子間 β -シート構造は分子内 β -シート構造を作っている残基に生成されやすいことも分かった。すなわち、安定な β -シート構造が存在すると分子間 β -シート構造が形成されやすくなることが分かった。

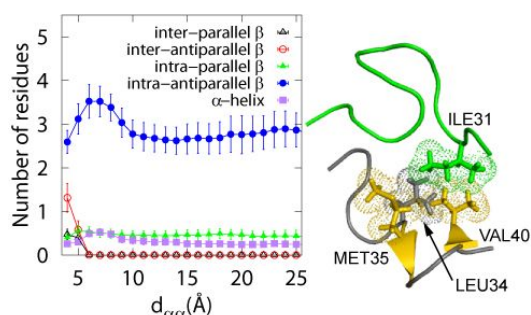


図5 二次構造を持つ平均残基数の分子間距離 d_{α} に対する変化(左)及び $d_{\alpha}=8\text{\AA}$ で見られる典型的な A β (29-42)の構造(右)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計10件)

Koya Inagaki, Tadashi Satoh, Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, Koichi Kato, “Redox-dependent conformational transition of catalytic domain of protein disulfide isomerase indicated by crystal structure-based molecular dynamics simulation”, *Chemical Physics Letters* 619, 203-207 (2015). (査読有)

DOI: 10.1016/j.cplett.2014.11.017

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Dimerization Process of Amyloid- β (29-42) Studied by the Hamiltonian Replica-Permutation Molecular Dynamics Simulations”, *Journal of Physical Chemistry B* 118, 11428-11436 (2014). (査読有)

DOI: 10.1021/jp505984e

Hisashi Okumura, Satoru G. Itoh, “Amyloid Fibril Disruption by Ultrasonic Cavitation: Nonequilibrium Molecular Dynamics Simulations”, *Journal of the American Chemical Society* 136, 10549-10552 (2014). (査読有)

DOI: 10.1021/ja502749f

Hisashi Okumura, Satoru G. Itoh, Atsushi M. Ito, Hiroaki Nakamura, and Toshio Fukushima, “Manifold Correction Method for the Nosé-Hoover and Nosé-Poincaré Molecular Dynamics Simulations”, *Journal of the Physical Society of Japan* 83, 024003, 5pages (2014). (査読有)

DOI: 10.7566/JPSJ.83.024003

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Hamiltonian Replica-Permutation Method and Its Applications to an Alanine Dipeptide and Amyloid- β (29-42) Peptides”, *Journal of Computational Chemistry* 34, 2493-2497 (2013). (査読有)

DOI: 10.1002/jcc.23402

Satoru G. Itoh, Tetsuya Morishita, Hisashi Okumura, “Decomposition-order effects of time integrator on ensemble averages for the Nosé-Hoover thermostat”, *Journal of Chemical Physics* 139, 064103, 10 pages (2013). (査読有)

DOI: 10.1063/1.4817194

Hisashi Okumura, Satoru G. Itoh, “Transformation of a design peptide between the α -helix and β -hairpin structures using a helix-strand replica-exchange molecular dynamics simulation”, *Physical Chemistry Chemical Physics* 15, 13852-13861 (2013). (査読有)

DOI: 10.1039/c3cp44443k

Tetsuya Morishita, Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, Masuhiro Mikami, “On-the-Fly Reconstruction of Free Energy Profiles Using Logarithmic Mean-Force Dynamics”, *Journal of Computational Chemistry* 34, 1375-1384 (2013). (査読有)

DOI: 10.1002/jcc.23267

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Coulomb Replica-Exchange Method: Handling Electrostatic Attractive and Repulsive Forces for Biomolecules”, *Journal of Computational Chemistry* 34, 622-639 (2013). (査読有)

DOI: 10.1002/jcc.23167

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Replica-Permutation Method with the Suwa-Todo Algorithm beyond the Replica-Exchange Method”, *Journal of Chemical Theory and Computation* 9, 570-581 (2013). (査読有)

DOI: 10.1021/ct3007919

〔学会発表〕(計22件)

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Dimer formation of A β (29-42) studied by the Hamiltonian replica-permutation method”, The 3rd International Symposium “Dynamical ordering of biomolecular systems for creation of integrated functions”, 2015年1月10日, 合歡の郷(三重県志摩市)

伊藤暁、奥村久士, “クーロンレプリカ置換分子動力学シミュレーションによるA β (29-42)の二量体形成”, 第28回分子シミュレーション討論会, 2014年11月14日, 仙台市民会館(宮城県仙台市)

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Dimerization of A β fragments by the Hamiltonian replica-permutation method”, International Symposium on Extended Molecular Dynamics and Enhanced Sampling: Nose Dynamics 30 Years, 2014年11月10日, 慶應大学(東京都港区)

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Applications of the Hamiltonian replica-permutation molecular dynamics simulations to A β fragments”, 第52回日本生物物理学会年会, 2014年9月27日, 札幌コンベンションセンター(北海道札幌市)

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Hamiltonian replica-permutation method and its application to A β fragments”, 2014 International Biophysics Congress, 2014年8月4日, Brisbane, Australia

伊藤暁、奥村久士, “ハミルトニアンレプリカ置換法によるA β (29-42)の研究”, 第14回日本蛋白質科学会年会, 2014年6月26日, 横浜産貿ホールマリネリア(神奈川県横浜市)

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Free-energy calculation by the replica-permutation method for biomolecules”, ICCMSE 2014 10th International Conference of Computational Methods in Sciences and Engineering, 2014年4月4日, Athens, Greece

伊藤暁、奥村久士, “ハミルトニアンレプリカ置換法を用いたA β フラグメントの研究”, 平成25年度生物物理中部支部会, 2014年3月19日, 分子科学研究所(愛知県岡崎市)

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Replica-permutation method to enhance sampling efficiency”, The 2nd International Symposium “Dynamical ordering of biomolecular systems for creation of integrated functions”, 2014年1月11日, キャンパスプラザ京都(京都府京都市)

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “New generalized ensemble algorithm without the detailed balance condition”, 3rd International Conference on Molecular

Simulation, 2013年11月18日, 神戸コンベンションセンター神戸国際会議場(兵庫県神戸市)

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Efficient sampling for biomolecules by the replica-permutation method”, 第51回日本生物物理学会年会, 2013年10月28日, 京都国際会議場(京都府京都市)

伊藤暁、奥村久士, “拡張アンサンブル法による効率的サンプリングに基づく自由エネルギー計算”, 第4回計算統計物理学研究会, 2013年10月6日, 山口大学(山口県宇部市)

伊藤暁、奥村久士, “諏訪・藤堂法を用いた拡張アンサンブル法:レプリカ置換法”, 日本物理学会2013年度秋季大会, 2013年9月27日, 徳島大学(徳島県徳島市)

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Replica-Permutation Method for Biomolecules as a Better Alternative to Replica-Exchange Method”, 9th European Biophysics Congress, 2013年7月13日, Lisbon, Portugal

伊藤暁、奥村久士, “レプリカ交換法からレプリカ置換法へ”, 第13回日本蛋白質科学会年会, 2013年6月13日, とりぎん文化会館(鳥取県鳥取市)

伊藤暁、奥村久士, “新たな拡張アンサンブル法:レプリカ置換法”, 第16回理論化学討論会, 2013年5月15日, 福岡市健康づくりサポートセンター(福岡県福岡市)

伊藤暁、奥村久士, “水中のA β フラグメントに対するクーロンレプリカ交換分子動力学シミュレーション”, 第26回分子シミュレーション討論会, 2012年11月26日, 九州大学西新プラザ(福岡県福岡市)

Satoru G. Itoh, “Coulomb Replica-Exchange Method and Its Applications”, 2012 NCTS November Workshop on Critical Phenomena and Complex Systems, 2012年11月16日, Taipei, Taiwan

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Studies on an A β fragment by the Coulomb replica-exchange method”, 第50回日本生物物理学会年会, 2012年9月22日, 名古屋大学(愛知県名古屋市)

伊藤暁、奥村久士, “クーロンレプリカ交換法によるA β (29-42)の構造探索”, 第6回分子科学討論会, 2012年9月18日, 東京大学(東京都文京区)

伊藤暁、奥村久士, “クーロンレプリカ交換法のA β フラグメントへの応用”, 第12回日本蛋白質科学会年会, 2012年6月20日, 名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)

伊藤暁、奥村久士, “クーロンレプリカ交換法のA β (29-42)への応用”, アジア連携分子研究会「実験及び理論研究手法の開拓と新規物性探索への展開」, 2012年6月1日, 分子科学研究所(愛知県岡崎市)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

伊藤 暁 (ITOH, Satoru)

分子科学研究所・理論・計算分子科学研究領域・助教

研究者番号 : 90595381