

令和元年5月31日現在

機関番号：63903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18531

研究課題名(和文) 新たなpH一定のシミュレーションによるアミロイド のオリゴマー形成機構の解明

研究課題名(英文) Oligomer formation of amyloid-beta studied by new constant pH 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) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：アミロイドベータペプチド(Abeta)のフラグメントであるAbeta(29-42)のオリゴマー形成過程をクーロンレプリカ置換分子動力学シミュレーションを用いて調べた。シミュレーションの結果、Abeta(29-42)が水中にバラバラに存在する単量体状態から各分子が順次集まることで四量体が形成されることが明らかとなった。

また、全長のAbetaの二量体形成過程を明らかにするためにクーロンレプリカ置換分子動力学シミュレーションを行った。その結果、分子内ベータシート構造が分子間ベータシート構造(二量体)の形成を促進することが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アミロイドベータペプチド(Abeta)が形成するオリゴマーはアルツハイマー病との関連が指摘されており、アルツハイマー病を克服するためにはオリゴマー形成過程の解明は不可欠である。本研究によりAbetaのオリゴマー形成初期過程を原子レベルで明らかにした。本研究を発展させることでアルツハイマー病の治療薬開発に貢献できると考える。

研究成果の概要(英文)：The oligomer formation process of Abeta(29-42), which is a fragment of the amyloid beta (Abeta) peptide, was studied by Coulomb replica-permutation molecular dynamics simulations. It was found that an oligomer increased in size by addition of a monomer to the oligomer sequentially.

We also performed Coulomb replica-permutation molecular dynamics simulations to clarify the dimer formation process of the full-length Abeta peptides. As a result, it was found that the intramolecular beta-sheet structure accelerated the formation of an intermolecular beta-sheet structure.

研究分野：生物物理

キーワード：アミロイド線維 分子シミュレーション

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

タンパク質が生体内で正常に機能するためには、正しい天然構造に折りたたまれる必要がある。タンパク質の中には、天然構造とは異なる間違った構造に折れたたまり凝集することで、アミロイド線維と呼ばれる不溶性の線維を形成するものがある。アミロイド線維は生体内で蓄積すると病気を引き起こすことがあり、アルツハイマー病やパーキンソン病など40種類以上の病気と関係していると考えられている。

アルツハイマー病はアミロイドベータペプチド ( $A\beta$ ) が凝集して形成するアミロイド線維と関連していると考えられている。近年の研究で、凝集初期に形成されるオリゴマーが高い神経毒性を示すことが報告された。アルツハイマー病治療のためには  $A\beta$  のオリゴマー構造及び形成過程の詳細を知る必要がある。

また、 $A\beta$  の凝集速度は溶媒の pH により異なることが知られている。 $A\beta$  の凝集過程における pH の効果を分子シミュレーション調べるためには、pH 一定のシミュレーションを行う必要がある。しかしながら、既存の方法では溶媒をあらわに取り扱うことが困難である。そこで新たな pH 一定のシミュレーション手法の開発が必要である。

### 2. 研究の目的

$A\beta$  のオリゴマー形成における重要な領域を特定するために、 $A\beta$  全長及びフラグメントを用いた実験が行われている。これらの研究により、 $A\beta$  の 29 番目から 42 番目のアミノ酸残基からなる C 末端領域が  $A\beta$  の凝集を促進していることが明らかとなった。また、このフラグメントである  $A\beta(29-42)$  はそれ自身でアミロイド線維を形成するが、形成過程の詳細は明らかとなっていない。そこで、アミロイド線維形成の初期過程にあたるオリゴマー形成過程を分子シミュレーションにより明らかにすることを目的とした。しかしながら、 $A\beta$  のオリゴマー形成は非常に遅い過程であり、通常の分子シミュレーションによりこの過程を調べることは困難である。この問題を解決するために効率的な構造サンプリングを実現する手法であるクーロンレプリカ置換法を用いた。

また、 $A\beta$  全長のオリゴマー形成過程を分子シミュレーションにより明らかにすることも目的とした。フラグメントの場合と同様に、クーロンレプリカ置換法を用いることで全長の  $A\beta$  に関して効率的な構造サンプリングを実現する。フラグメントの全長のオリゴマー形成過程を比較することで、 $A\beta$  のオリゴマー形成において重要な事象を明らかにする。

### 3. 研究の方法

$A\beta$  のオリゴマー形成過程を分子シミュレーションにより原子レベルで調べるために、クーロンレプリカ置換法を用いた。クーロンレプリカ置換法は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、タンパク質原子間の静電ポテンシャルが

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

となるようにパラメータ  $\lambda$  を導入する。ここで、 $Q_i$  は原子  $i$  の静電荷、 $\epsilon_0$  は真空の誘電率、 $r_{ij}$  は原子  $i$  と  $j$  の間の距離である。シミュレーションの対象となる系のレプリカを用意し、各レプリカに異なる  $\lambda$  の値を割り当てる。各レプリカは割り当てられた  $\lambda$  の値でシミュレーションを行い、シミュレーションの途中で3つ以上のレプリカ間で  $\lambda$  の値の置換を行う。この結果、シミュレーションの時間経過にともない各レプリカの  $\lambda$  の値は図1に示すように変化する。

レプリカが様々な  $\lambda$  の値を取ることによってタンパク質原子間の静電相互作用が強くなったり弱くなったりする。これにより、タンパク質中のアミノ酸残基間の水素結合を誘起したり阻害したりする。タンパク質の水素結合が変化するとタンパク質の構造も変化するので、クーロンレプリカ置換法を用いることでタンパク質の構造を効率的に探索することが可能である。

### 4. 研究成果

#### (1) $A\beta(29-42)$ のオリゴマー形成過程

$A\beta(29-42)$  のオリゴマー形成過程を調べるために、水中に4分子の  $A\beta(29-42)$  を入れた系についてクーロンレプリカ置換分子動力学シミュレーションを行った。4分子のオリゴマー状態として5つの状態を考えることができる。5つの状態は4分子が全て単量体の状態(4M)、2分子が二量体を形成して残り2分子が単量体の状態(2M1D)、3分子が三量体を形成し残りの分子が単量体の状態(1M1Tr)、2つの二量体が形成されている状態(2D)、四量体の状態(1Te)である。

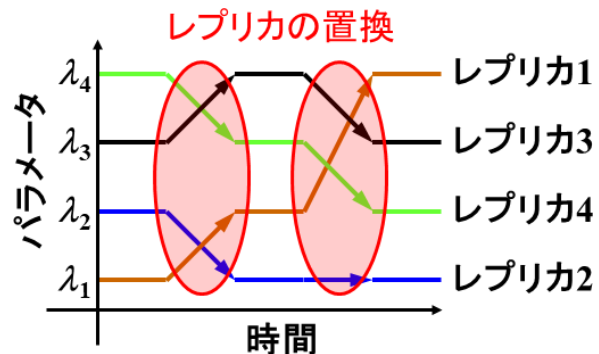


図1 クーロンレプリカ置換法概念図。

シミュレーションの結果、単量体状態から二量体が1つ形成され、次に三量体が形成され、最後に四量体が形成される(4M 2M1D 1M1Tr 1Te)という四量体形成過程が明らかとなった(図2)。四量体形成過程で三量体状態を経由せずに、2つの二量体の状態を経由する過程も考えられるが、2M1D状態と2D状態の間の自由エネルギーバリアが高く、このような形成過程は自由エネルギー的に不利であることが分かった。この結果は、小さなオリゴマーが会合してより大きなオリゴマーを形成するよりも、オリゴマーに順次単量体が結合して大きなオリゴマーを形成する方が自由エネルギー的に有利であることを示唆している。

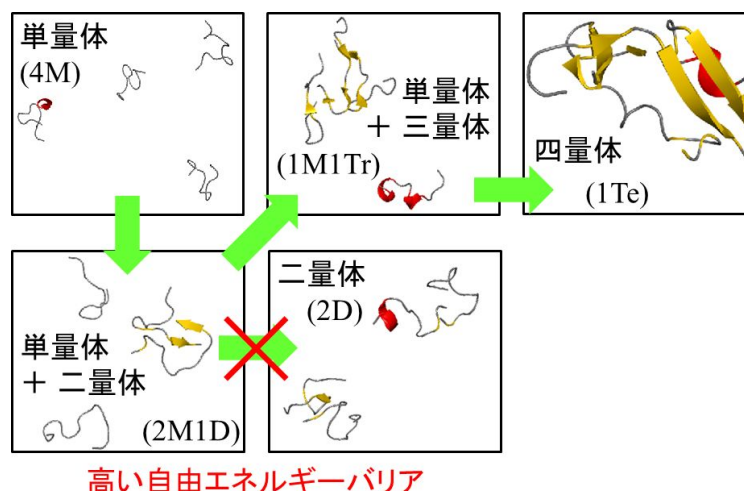


図2 A $\beta$ (29–42)の四量体形成過程。

## (2) A $\beta$ 全長のオリゴマー形成過程

A $\beta$ 全長のオリゴマー形成過程を調べるために、水中に2分子のA $\beta$ を入れた系についてクーロンレプリカ置換分子動力学シミュレーションを行った。シミュレーションの結果、実験と同様に分子間 $\beta$ -シート構造が形成されることが分かった。また、分子間 $\beta$ -シート構造は一方のA $\beta$ が $\beta$ -ヘアピン構造を持っている時に形成されやすいことが分かった。即ち、 $\beta$ -ヘアピンが二量体形成を促進していることが明らかとなった。A $\beta$ (29–42)の場合でも $\beta$ -ヘアピンが分子間 $\beta$ -シートの形成を促進しているという結果が得られており、 $\beta$ -ヘアピンはオリゴマー形成に重要な役割を果たしていると考えられる。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計4件)

Satoru G. Itoh, Maho Yagi-Utsumi, Koichi Kato, Hisashi Okumura, “Effects of a hydrophilic/hydrophobic interface on amyloid- $\beta$  peptides studied by molecular dynamics simulations and NMR experiments”, *Journal of Physical Chemistry B* 123, 160-169 (2019). (査読有)

DOI: 10.1021/acs.jpcc.8b11609

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Oligomer formation of amyloid- $\beta$ (29–42) from its monomers using the Hamiltonian replica-permutation molecular dynamics simulation”, *Journal of Physical Chemistry B* 120, 6555-6561 (2016). (査読有)

DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b03828

Rupali Gupta, Shigeru Saito, Yoshiharu Mori, Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, Makoto Tominaga, “Structural basis of TRPA1 inhibition by HC-030031 utilizing species-specific differences”, *Scientific Reports* 6, 37460 (2016). (査読有)

DOI: 10.1038/srep37460

Hisashi Okumura, Satoru G. Itoh, “Structural and fluctuational difference between two ends of Abeta amyloid fibril: MD simulations predict only one end has open conformations”, *Scientific Reports* 6, 38422 (2016). (査読有)

DOI: 10.1038/srep38422

[学会発表](計16件)

伊藤暁、奥村久士, “水溶液表面及び水中でのA $\beta$ 単量体に関する分子動力学シミュレーション”, 第21回理論化学討論会, 2018.

伊藤暁、奥村久士, “A $\beta$ 40とA $\beta$ 42の二量体形成における違いに関する理論的研究”, 第18回日本蛋白質科学会年会, 2018.

Satoru G. Itoh, “Molecular dynamics simulations of a full-length amyloid- $\beta$  peptide at a hydrophobic/hydrophilic interface”, The 22th International Annual Symposium on Computational Science and Engineering, 2018.

伊藤暁、奥村久士, “ハミルトニアンレプリカ置換分子動力学シミュレーションによるA $\beta$ 40とA $\beta$ 42の二量体形成”, 第32回分子シミュレーション討論会, 2018.

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Oligomer formation of A $\beta$ (29–42) by Coulomb replica-permutation molecular dynamics simulations”, Asian Biophysics Association Symposium 2018, 2018.

伊藤暁、奥村久士，“アミロイド ペプチドの全原子分子動力学シミュレーション”，第1回松山道後・分子論セミナー，2018.

伊藤暁，“レプリカ置換法とそのアミロイド ペプチドへの応用”，凝集系の理論化学，2017.

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Oligomerization pathway of A $\beta$  fragments by the Hamiltonian replica-permutation method”, 11th European Biophysics Congress, 2017.

Satoru G. Itoh, “Replica-permutation method: efficient sampling for biomolecules”, 阪大ミニワークショップ，2017.

Satoru G. Itoh, “Oligomerization pathway of amyloid- $\beta$  fragments studied by the Hamiltonian replica-permutation method”, The 21th International Annual Symposium on Computational Science and Engineering, 2017.

伊藤暁、奥村久士，“ハミルトニアンレプリカ置換分子動力学シミュレーションによるA全長の二量体構”，第11回分子科学討論会，2017.

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Dimerization of full-length A $\beta$  peptides by the Hamiltonian replica-permutation method”, 日本生物物理学会第55回年会，2017.

Satoru G. Itoh, “Replica-permutation method to obtain efficient sampling for biomolecules”, The 2017 EMN Meeting on Computation and Theory, 2017.

Satoru G. Itoh, “Oligomerization of A $\beta$ (29–42) using Hamiltonian replica-permutation MD simulations”, 2017 NCTS March Workshop on Critical Phenomena and Complex Systems, 2017.

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Oligomer Formation Process of A $\beta$  Fragments by Hamiltonian Replica-Permutation Methods”, The 10th International Conference on Computational Physics, 2017.

Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, “Hamiltonian replica-permutation molecular dynamics simulation studies on the oligomerization of amyloid- $\beta$  fragments”, The 26th IUPAP International Conference on Statistical Physics, 2016.

〔図書〕(計1件)

伊藤暁、奥村久士，“分子動力学シミュレーションによるアミロイド線維の形成と破壊”，マテリアルズ・インフォマティクスによる材料開発と活用集（情報技術協会，2019），第10章，第3節，431-438.