

2P133 アミロイドβタンパク質のC末端残基が二量体形成に与える影響： 古典MD及び*Ab initio*フラグメントMO法を用いた解析

(豊橋技術科学大学大学院¹、村田製作所²)
矢野篤志¹、岡本晃澄¹、野村和哉¹、檜貝信一²、栗田典之¹

The effect of C-terminal residue of amyloid-β on its dimer formation: classical MD and *ab initio* fragment MO calculations

(Toyohashi University of Technology¹, Murata Manufacturing Co., Ltd.²)
A. Yano¹, A. Okamoto¹, K. Nomura¹, S. Higai² and N. Kurita¹

【はじめに】

アルツハイマー病 (AD) は、認知症の中で最も多い症状であり、その発症には、アミロイドβタンパク質 (Aβ) の凝集が深く関係している。Aβは、アミロイド前駆体タンパク質が、タンパク質分解酵素であるβ及びγセクレターゼによって切断される事により生成される。Aβの凝集性と毒性は、AβのC末端のアミノ酸残基数によって変化する事が知られている。これまで、42個のアミノ酸から成るAβ(1-42)が、凝集性と毒性が高く、Aβ凝集体の主成分であるとされてきたが、43個のアミノ酸から成るAβ(1-43)が、Aβ(1-40)やAβ(1-42)などの他のAβより強い凝集性と毒性を示す事が、最近の実験で報告されている[1,2]。しかし、これらのサイズが異なるAβの凝集機構の相違、及びC末端のThr43が凝集性にどのような影響を及ぼすかは未解明である。

本研究では、Aβ(1-42)とAβ(1-43)の凝集性の相違を明らかにする目的で、Aβ(1-42)二量体、この片方のAβ(1-42)のC末端に43番目のアミノ酸Thr43を付加した二量体、及び両方のAβ(1-42)のC末端にThr43を付加したAβ(1-43)二量体の構造を作成し、レプリカ交換分子動力学(REMD)法を用いて、各二量体構造の水中での安定配座を広範囲に探索した。さらに、フラグメント分子軌道(FMO)計算を用い、各安定配座のエネルギーを高精度に計算し、最安定な配座を決定した。また、FMO計算の結果を基に、Aβ単量体間の相互作用を解析し、C末端のアミノ酸Thr43の付加が、Aβ二量体の凝集性にどのような影響を与えるかを明らかにした。この結果は、様々なサイズのAβに対する凝集機構の初期段階の解明に、有益な知見を与えるものである。

【計算手法】

本研究では、二量体の初期構造として、Aβ(9-40)線維の実験構造(PDB ID: 2LMN, 2LMO)を採用した。これらの構造のC末端にIle41及びAla42を付加し、Aβ(9-42)二量体構造を16個作成し、水中でのREMD及び*ab initio* FMO計算を実行し、その中の最安定な構造を決定した。その最安定構造を基に、N末端側の1から8番目の残基を補完し、Aβ(1-42)二量体の初期構造を作成した。更に、Aβ(1-42)二量体構造に対し、Thr43を片方のAβのC末端のみに付加した構造、及びThr43を両方のAβのC末端に付加したAβ(1-43)二量体の構造を作成し、それらの構造の約2倍の大きさのボックスを設定し、そのボックス内に水和水を付加し、REMD計算の初期構造とした。

REMD計算では、270.0から363.8 Kの温度範囲で52個のレプリカを作成し、10 nsのREMD計算を行った。その計算から得られた289.6から310.7 Kの温度のレプリカに対する各MDトラジェクトリから、ポテンシャルエネルギーが最低の構造をサンプリングし、13個の代表構造を得た。これらの代表構造を分子力学(MM)法により最適化し、各構造の水中での安定構造を決定した。REMD及びMM計算では、古典分子力場FF99SB及びTIP4P-Ew水分子モデルを用いた。最後に、最適化した水和水構造に対し、MP2/6-31G法を用いた*ab initio* FMO計算により、エネルギーを高精

度に解析し、その値を基に、最安定な二量体構造を決定した。そして、FMO 計算の結果から、A β (1-42)、A β (1-43)に含まれるどのアミノ酸が二量体の形成に重要であるか、A β (1-42)の C 末端へのアミノ酸付加が A β の凝集性にどのような影響を与えるかを明らかにした。

【計算結果と考察】

289.6–310.7 K の MD トrajジェクトリからサンプリングした 13 個の A β (1-43)二量体の代表構造を、MM 法を用いて最適化し、それらの Total energy (E_T)を *ab initio* FMO 法により計算した。FMO 計算により得た各構造の E_T を利用し、単量体間の Binding energy (E_B)算出した。A β (1-42)二量体及び A β (1-43)二量体の各最適化構造の中で、 E_B が最大である構造に対し、 E_B の値を比較した結果を Table 1 に示す。A β (1-43)二量体の方が A β (1-42)二量体より E_B が 164.8 kcal/mol 大きくなる。従って、今回の FMO 計算により、A β (1-43)二量体の方が A β (1-42)二量体よりも A β 間の結合が強くなることを示すことができた。この結果は実験[1, 2]と定性的に一致している。

また、C 末端へのアミノ酸付加が A β 間の結合に与える影響を調べるため、A β (1-42)二量体と A β (1-43)二量体に対し、A β の各アミノ酸間の相互作用エネルギーを比較した。Figure 1 に示すように、A β (1-43)二量体において、A β (1-42)二量体より引力相互作用が最も強くなった部位は、荷電アミノ酸の同士の Asp23 と Lys28 間の相互作用であり、64.4 kcal/mol、引力相互作用が強くなる。また、C 末端 Thr43 も単量体間の相互作用の強化に寄与しており、Thr43 ともう一方の A β (1-43)の Arg5 間に、36.9 kcal/mol の引力相互作用が生じる。C 末端へのアミノ酸付加により、これらのアミノ酸間の相互作用が変化し、A β 二量体間の結合が強まることが、今回の計算で明らかになった。

Table 1 Total energies (E_T) and binding energies (E_B) for the solvated A β (1-42) dimer and A β (1-43) dimer obtained by *ab initio* FMO method

Structure	E_T (kcal/mol)				E_B (kcal/mol)	ΔE_B
	Solvated A β dimer	Solvated A β monomer 1	Solvated A β monomer 2	1,151 water molecule		
A β (1-42) dimer	-74792906.1	-64889743.8	-64889573.4	-54986728.1	317.0	-164.8
A β (1-43) dimer	-75245142.6	-65115961.2	-65115681.0	-54986981.4	481.8	0.0

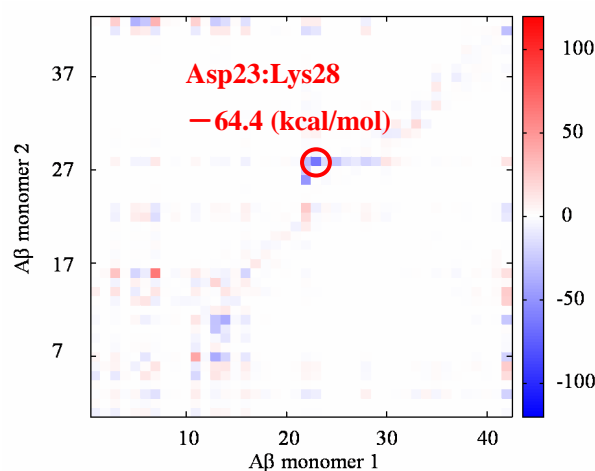


Figure 1 Interaction energies (kcal/mol) between amino acid residues for A β (1-43) dimer compared with those for A β (1-42) dimer

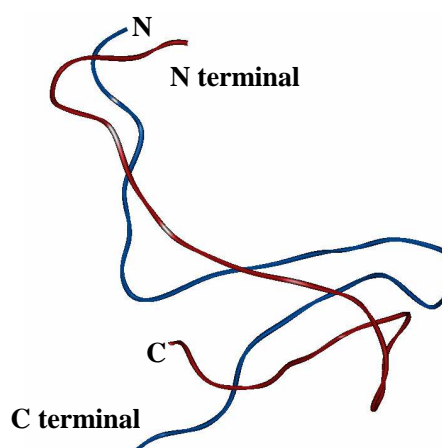


Figure 2 Structure of A β (1-43) dimer with the largest binding energy

【参考文献】 [1]T. Saito *et al.*, *Nature*, 14 (2011)1023. [2]A. Sandebring *et al.*, *PloS one*, 8.2(2013) e55847.