

奥村久士（准教授）（2009年5月1日着任）

伊藤 暁（助教）

谷本 勝一（学振特別研究員）

福原 大輝（大学院生）

大多和 克紀（大学院生）

川口 律子（事務支援員）

A-1) 専門領域：理論生物物理学，理論化学物理学

A-2) 研究課題：

- a) アミロイドβペプチドの凝集初期過程の解明
- b) 赤外線レーザーによるポリアラニンのアミロイド線維破壊の分子動力学シミュレーション
- c) 温度とレプリカの組み合わせをランダムに並べたリストを用いるレプリカ置換ソルトテンパリング法の開発
- d) ポリフェノールによるアミロイドβフラグメント凝集阻害効果を解明するレプリカ置換ソルトテンパリングシミュレーション
- e) 生体膜上の流れを再現する分子動力学シミュレーション手法の開発

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) アルツハイマー病はアミロイドβ (Aβ) ペプチドの凝集体が原因で発症する。Aβには42残基からなるAβ42と40残基からなるAβ40の2種類がある。Aβ42の方が凝集速度が速く毒性も高いが、その理由は明らかではなかった。我々は独自に開発してきた分子動力学手法を使ってまずAβがβヘアピン構造を形成している時に凝集しやすいことを発見した。次にAβ42の方がβヘアピン構造を取りやすく、そのため凝集しやすいことも明らかにした。さらに、凝集を促進しているのは5番目のアミノ酸であるアルギニンであることを理論的に予言した。この理論的予言の真偽を検証するために加藤晃一グループに依頼してArg5を変異したAβについて凝集実験を行ってもらった。その結果、変異体では凝集が大幅に抑制されることが明らかとなり、シミュレーションで予測された通りの結果を得ることができた。様々な物質について理論的手法で実験結果を説明する研究は数多くあるが、実験結果を事前に予言する理論研究は少ない。特に病気の原因物質については他に皆無であり、我々は病気の発症機構を予言する理論・計算化学のフロントランナーとなっている。
- b) 昨年度、我々は赤外線レーザーを照射してAβアミロイド線維を破壊する非平衡分子動力学シミュレーションを行い、水分子がアミロイド線維を破壊する新たな機構を発見した。今年度はポリアラニンのアミロイド線維を赤外線レーザー照射により破壊する非平衡分子動力学シミュレーションを行った。ポリアラニン病は長いアラニン鎖を含むタンパク質が凝集することで発症し、手足の多指症、合指症などを引き起こす。シミュレーションの結果、Aβアミロイド線維よりもポリアラニンのアミロイド線維の方が破壊されにくいことが分かり、この原因を次のように解明した。アミロイド線維の破壊は、レーザーパルスが照射される度にC=OとN-Hの間の分子間水素結合が切断され、その隙間に水分子が入り込むことで起こる。ポリアラニンには疎水性残基しかないため、アミロイド線維の周囲にもともと水分子が少なく、C=OとN-Hの間の分子間水素結合が破壊された後にその再形成が阻害されにくい。このためポリアラニンのアミロイド線維の方が破壊されにくいのである。

- c) 生体分子のように複雑な自由エネルギー地形を持つ系でも効率良くその構造を探索できるシミュレーション手法である「レプリカ置換法」を我々は開発してきた。この方法では異なる温度を持つ系のコピー（レプリカと呼ぶ）を複数用意し、シミュレーションの途中で3つ以上のレプリカ間で温度を置換する。さらに昨年度、溶質の自由度にのみ注目するレプリカ置換法である「レプリカ置換ソルトテンパリング法」を開発し、巨大な分子系にも対応できるよう、その適用範囲を広げることに成功した。この手法はレプリカ交換法など他の類似の手法よりも短時間に様々な構造データを収集でき、最も優れた構造探索手法である。ただ、従来のレプリカ置換法では、温度とレプリカの組み合わせを系統的に並べたリストを用いており、このリストを用いたレプリカ交換ソルトテンパリング法では、大きなレプリカ番号を持つレプリカで遷移確率が減少するという問題点が見つかった。この問題の原因を解明し、さらに解決するため、温度とレプリカの組み合わせをランダムに並べたリストを用いるレプリカ置換ソルトテンパリング法を開発した。その結果、全てのレプリカにおいて遷移確率を上昇させることに成功した。
- d) ポリフェノールはA β ペプチドの凝集を阻害する効果がある。我々はレプリカ置換ソルトテンパリング法をA β フラグメントとポリフェノールの系に適用して、凝集阻害のメカニズムを明らかにした。ポリフェノールにはミリセチン、ロスマリン酸の二種類を用いた。まず、ミリセチンやロスマリン酸が相互作用することで、A β フラグメントで分子間 β シートを形成する残基が減少することを示した。ミリセチンのグルタミン酸はA β フラグメントの親水性残基と、フェニルアラニンはA β フラグメントの疎水性残基と相互作用をすることが見られた。一方、ロスマリン酸は、A β フラグメントのグルタミン酸およびリジンと親水性相互作用をすることがわかった。このことから、ミリセチンとロスマリン酸は異なるメカニズムでA β フラグメントの凝集を阻害していることを明らかにした。
- e) 生体膜表面で溶液の流れを発生させるための非平衡分子動力学シミュレーション法を開発した。この手法では生体膜の重心をラグランジュ未定乗数法で固定しながら、生体膜上の溶液には一定の加速度を加えることで生体膜上の流れを作り出している。この手法を用いてジミリストイルホスファチジルコリン（DMPC）二重膜上のNaCl溶液の流れのシミュレーションを行った。その結果、系内の温度を一定に保ちながら溶液に放物線状の流れ場を作ること成功した。また、DMPC二重膜の重心は固定されながらも揺らぎを生じさせることができた。

B-1) 学術論文

S. G. ITOH, M. YAGI-UTSUMI, K. KATO and H. OKUMURA, “Key Residue for Aggregation of Amyloid- β Peptides,” *ACS Chem. Neurosci.* **13**(22), 3139–3151 (2022). DOI: 10.1021/acscchemneuro.2c00358

D. FUKUHARA, M. YAMAUCHI, S. G. ITOH and H. OKUMURA, “Ingenuity in Performing Replica Permutation: How to Order the State Labels for Improving Sampling Efficiency,” *J. Comput. Chem.* **44**(4), 534–545 (2023). DOI: 10.1002/jcc.27020

M. X. MORI, R. OKADA, R. SAKAGUCHI, H. HASE, Y. IMAI, O. K. POLAT, S. G. ITOH, H. OKUMURA, Y. MORI, Y. OKAMURA and R. INOUE, “Critical Contributions of Pre-S1 Shoulder and Distal TRP Box in DAG-Activated TRPC6 Channel by PIP2 Regulation,” *Sci. Rep.* **12**(1), 10766 (2022). DOI: 10.1038/s41598-022-14766-x

M. JINDO, K. NAKAMURA, H. OKUMURA, K. TSUKIYAMA and T. KAWASAKI, “Application Study of Infrared Free-Electron Lasers towards the Development of Amyloidosis Therapy,” *J. Synchrotron Radiat.* **29**, 1133–1140 (2022). DOI: 10.1107/S1600577522007330

B-3) 総説, 著書

H. OKUMURA and S. G. ITOH, “Molecular Dynamics Simulation Studies on the Aggregation of Amyloid- β Peptides and Their Disaggregation by Ultrasonic Wave and Infrared Laser Irradiation,” *Molecules* **27(8)**, 2483 (2022). DOI: 10.3390/molecules27082483

Y. TACHI, S. G. ITOH and H. OKUMURA, “Molecular Dynamics Simulations of Amyloid- β Peptides in Heterogeneous Environments,” *Biophys. Physicobiol.* **19**, e190010 (2022). DOI: 10.2142/biophysico.bppb-v19.0010

谷本勝一, 伊藤暁, 奥村久士, 「新型コロナウイルスのRNA依存性RNAポリメラーゼによるリガンド認識の分子動力学シミュレーション」, *シミュレーション*, **41**, 83–94 (2022).

S. TANIMOTO, S. G. ITOH and H. OKUMURA, “State-of-the-Art Molecular Dynamics Simulation Studies of RNA-Dependent RNA Polymerase of SARS-CoV-2,” *Int. J. Mol. Sci.* **23(18)**, 10358 (2022). DOI: 10.3390/ijms231810358

奥村久士, 「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」, *レーザー加工学会誌*, **29**, 160–165 (2022).

H. OKUMURA, T. KAWASAKI and K. NAKAMURA, “Probing Protein Misfolding and Dissociation with an Infrared Free-Electron Laser,” *Methods in Enzymology*, Volume 679 “Integrated Methods in Protein Biochemistry: Part B,” Arun K. Shukla, Ed., Chap. 3, 65–96 (2023). DOI: 10.1016/bs.mie.2022.08.047 ISBN: 978-0-323-99264-0

B-4) 招待講演

奥村久士, 「各種統計アンサンブルの生成法」, 第16回分子シミュレーションスクール—基礎から応用まで—, 岡崎市, 2022年9月.

奥村久士, 「アミロイド β ペプチド凝集体の非平衡分子動力学シミュレーション」, Mie Meeting of Quantum Science, 津市, 2022年12月.

奥村久士, 「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」, 第63回高压討論会シンポジウム: 高压力および関連する極限環境下の化学・生物・生命科学, 茨木市, 2022年12月.

奥村久士, 「アミロイド線維の非平衡分子動力学シミュレーション」, 山形大学理学部 離散数理セミナー, 山形市, 2022年12月.

奥村久士, 「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」, Biothermology Workshop 2022, 静岡市, 2022年12月.

奥村久士, 「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」, 企業研究会第36期CAMMフォーラム本例会, 東京都港区, 2023年2月.

奥村久士, 「生命分子動態シミュレーション研究グループの最近の研究について」, ExCELLS ファカルティデベロップメント, 蒲郡市, 2023年2月.

奥村久士, 「物質—生命の境界探査のための分子動力学シミュレーション」, 物質—生命の境界探査プラットフォーム2022年度報告会, 岡崎市, 2023年3月.

奥村久士, 「アルツハイマー病の原因となるタンパク質凝集体の分子動力学シミュレーション」, 慶應義塾大学理工学部物理情報工学科渡辺研セミナー, 横浜市, 2023年3月.

H. OKUMURA, “Disaggregation of amyloid- β aggregates observed by nonequilibrium molecular dynamics simulations,” 18th International Conference of Computational Methods in Sciences and Engineering, Heraklion (Greece), October 2022.

H. OKUMURA, “Protein aggregation and disaggregation by generalized-ensemble and nonequilibrium molecular dynamics simulations,” 4th International Conference on Materials Research and Innovation, Bangkok (Thailand), December 2022.

H. OKUMURA, “Generalized-ensemble and nonequilibrium molecular dynamics simulations of protein aggregates,” Asia and Pacific Conference of Theoretical and Computational Chemistry, Quy Nhon (Vietnam), February 2023.

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

日本物理学会名古屋支部役員 (2017–).

学会の組織委員等

日本蛋白質科学会年会若手奨励賞審査委員 (2016–).

XXXIV IUPAP Conference on Computational Physics (CCP2023), Steering Committee member (実行委員) (2021–).

文部科学省, 学術振興会, 大学共同利用機関等の委員等

東京大学物性研究所スーパーコンピュータ共同利用委員会委員 (2016–).

理科教育活動

出前授業「分子研授業～授業の先に何があるのか～『病気に関わるタンパク質をコンピュータシミュレーションで観察する』」愛知県立岡崎北高等学校あいちSTEMハイスクール研究指定事業 (2022).

その他

分子動力学シミュレーションの普及のため, 奥村の講義を動画に収録してYouTubeで無料公開した (<https://www.youtube.com/watch?v=6B3BE7-iIPk>). これは動画公開のために改めてカメラの前で私が講義を行い, それを配信しているものである。合計約16時間かけて分子動力学シミュレーションの基礎から発展的な内容まで系統的に説明している。昨年末に公開を始めて以来約3ヶ月で視聴回数は2200回を超え, 大きな反響を得た。この回数は大学の講義動画としては異例の多さであり, 全国の学生および若手研究者の育成に貢献している。

B-8) 大学等での講義, 客員

総合研究大学院大学物理科学研究科, 「生体分子シミュレーション入門」, 2022年12月.

名古屋市立大学大学院薬学研究科, 客員准教授, 2019年4月–.

B-9) 学位授与

福原大輝, 「Development of calculation methods for proteins and their application to the inhibition of amyloid- β fragment aggregation」, 2023年3月, 博士(理学).

B-10) 競争的資金

科研費基盤研究(C), 「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」, 奥村久士 (2021年度–2023年度).

科研費基盤研究(C), 「計算機シミュレーションによる脂質膜上でのアミロイドペプタペプチドの凝集過程の解明」, 伊藤 暁 (2021年度–2023年度).

科研費若手研究, 「アルギニンによるポリグルタミンタンパク質の凝集阻害過程の理論研究」, 谷本勝一 (2021年度–2023年度).

C) 研究活動の課題と展望

- a) 生体内は血液や細胞間液、細胞内液などの液体で満たされ、これらの液体は常に流動している。この流れがタンパク質のアミロイド線維化を促進していることが最近明らかになった。しかし、流れ場がアミロイド線維化を促進する機構はまだ分かっていない。そこで、今年度開発した流れを生み出す非平衡分子動力学シミュレーション手法を行って、流れによりアミロイド線維化が促進される理由を解明する。
- b) 全長のA β ペプチド(40および42残基)を32本水溶液中に配置した巨大系の分子動力学シミュレーションを行っている。これはA β ペプチドに関する世界最大のシミュレーションである。これまでに1.6マイクロ秒の計算が終了し、現在その解析を行っている。このシミュレーションを通じて、単量体→二量体→三量体→四量体と凝集していく過程での構造変化を調べる。特にどのアミノ酸残基が凝集に重要な役割を果たしているのか見つけ出す。
- c) α シヌクレインの凝集には細胞膜との結合が重要である。そこで α シヌクレインのN末領域が細胞膜に結合する過程の分子動力学シミュレーションを現在実行中である。数種類の細胞膜についてシミュレーションを行い、 α シヌクレインが結合しやすい細胞膜とそうでない細胞膜の特徴とその理由も明らかにする。