

岡 崎 圭 一 (准教授) (2020 年 12 月 1 日着任)

大貫 隼 (助教)

小林 稜平 (学振特別研究員)

MAHMOOD, Md Iqbal (特任研究員)

GUYOT, Constantin (インターンシップ)

関 健仁 (大学院生)

千葉 史朱香 (事務支援員)

A-1) 専門領域：理論生物物理学

A-2) 研究課題：

- a) 分子モーターの 1 方向性運動メカニズムの解明
- b) トランスポーターの輸送メカニズムの解明
- c) タンパク質が引き起こす細胞膜変形メカニズムの解明

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 分子モーターは、生体内で ATP 加水分解エネルギーなどの化学エネルギーを消費して、1 方向性の運動をするタンパク質である。また、このような運動を阻害する因子が存在することが知られている。一例として、回転モーター F_1 -ATPase の回転運動を阻害する IF_1 があるが、興味深いことに、阻害状態を解除するには合成方向に回転させる必要があり、ここで再び 1 方向性の運動が必要になる。この 1 方向性の阻害状態解除メカニズムを分子シミュレーションによって解明する。シミュレーション中に、回転子にトルクをかけて加水分解・合成方向のそれぞれに回転させて、阻害因子・回転子の相互作用、回転に伴う仕事等の観点から解析を行なっている。
- b) シュウ酸は多量に摂取すると、体内で尿管結石等の症状を引き起こす。このシュウ酸は腸内細菌により分解され制御されているが、その際にシュウ酸を細菌内に輸送するのがシュウ酸トランスポーターである。このシュウ酸トランスポーターの原子レベル構造が岡山大・山下敦子教授のグループで解かれた。我々は、山下教授のグループとの共同研究により、シュウ酸トランスポーターによる基質輸送の際の基質結合やトランスポーター構造ダイナミクスを量子化学・分子動力学計算を用いて取り組んだ。まず、基質結合サイトの量子化学計算により結合したシュウ酸がねじれた構造をしていることを明らかにした。次に、トランスポーターの全原子分子動力学シミュレーションにより、閉塞状態から外向き開状態へ構造遷移する際に基質結合に関わる特定のアミノ酸残基とゲートの役割をしているアミノ酸残基の動きが重要でスイッチになっていることを同定した。さらに、構造変化に重要な部位の相互作用を人工的に弱めたシミュレーションにより、これまで未知であった内向き開構造が解明され、構造予測 AI である AlphaFold2 により内向き開構造を安定化する変異を予測した。
- c) 細胞膜は、多種多様なタンパク質と相互作用して、ダイナミックに変形する。例えば、エンドサイトーシスなどで見られるように一部切り離されて袋状構造（ベシクル）を作って細胞内外の物質輸送に使われる。このような細胞膜変形に関わるタンパク質が、膜を曲げる Paccin1 や、GTP 加水分解エネルギーを用いて膜を切断するダイナミンである。我々は、大規模で長時間のシミュレーションが可能な粗視化 Gō-MARTINI モデルの開発を行って、Paccin1 に応

用することで、その構造揺らぎが正しく再現できることを示した。さらに、チューブ状膜とダイナミンの大規模多量体からなるシミュレーション系を構築して、ダイナミンによる膜切断の分子メカニズムに迫ろうとしている。

B-1) 学術論文

J. OHNUKI, T. JAUNET-LAHARY, A. YAMASHITA and K. OKAZAKI, “Accelerated Molecular Dynamics and AlphaFold Uncover a Missing Conformational State of Transporter Protein OxIT,” *J. Phys. Chem. Lett.* **15**(3), 725–732 (2024). DOI: 10.1021/acs.jpclett.3c03052

M. YAGI-UTSUMI, H. MIURA, C. GANSER, H. WATANABE, M. HIRANYAKORN, T. SATOH, T. UCHIHASHI, K. KATO, K. OKAZAKI and K. AOKI, “Molecular Design of FRET Probes Based on Domain Rearrangement of Protein Disulfide Isomerase for Monitoring Intracellular Redox Status,” *Int. J. Mol. Sci.* **24**(16), 12865 (2023). DOI: 10.3390/ijms241612865

J. OHNUKI, Y. ARIMURA, T. KONO, K. KINO, H. KURUMIZAKA and M. TAKANO, “Electrostatic Ratchet for Successive Peptide Synthesis in Nonribosomal Molecular Machine RimK,” *J. Am. Chem. Soc.* **145**(29), 15963–15970 (2023). DOI: 10.1021/jacs.3c03926

T. JAUNET-LAHARY, T. SHIMAMURA, M. HAYASHI, N. NOMURA, K. HIRASAWA, T. SHIMIZU, M. YAMASHITA, N. TSUTSUMI, Y. SUEHIRO, K. KOJIMA, Y. SUDO, T. TAMURA, H. IWANARI, T. HAMAKUBO, S. IWATA, K. OKAZAKI, T. HIRAI and A. YAMASHITA, “Structure and Mechanism of Oxalate Transporter OxIT in an Oxalate-Degrading Bacterium in the Gut Microbiota,” *Nat. Commun.* **14**(1), 1730 (2023). DOI: 10.1038/s41467-023-36883-5

R. KOBAYASHI, H. UENO, K. OKAZAKI and H. NOJI, “Molecular Mechanism on Forceful Ejection of ATPase Inhibitory Factor 1 from Mitochondrial ATP Synthase,” *Nat. Commun.* **14**(1), 1682 (2023). DOI: 10.1038/s41467-023-37182-9

B-4) 招待講演

岡崎圭一, 「Conformational dynamics of transporter proteins revealed by molecular simulation and AlphaFold2」, 第 61 回日本生物物理学会年会, 名古屋, 2023 年 11 月.

岡崎圭一, 「分子シミュレーションと反応速度論・マルコフモデル」, 第 17 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, 2023 年 9 月.

K. OKAZAKI, “Molecular Simulation of functional motions in biomolecular machines,” The 6th International Conference on Molecular Simulation, Taipei (Taiwan), October 2023.

K. OKAZAKI, “Accelerated Molecular Dynamics and AlphaFold Discover a Conformational State of Transporter Protein OxIT,” 9th Annual CCPBioSim Conference: Biomolecular Simulations for a Better World, Leeds (U.K.), July 2023.

B-6) 受賞, 表彰

小林稜平, 日本生物物理学会若手奨励賞 (2023).

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

日本生物物理学会代議員 (2023–2025).

学会の組織委員等

分子シミュレーション学会幹事(分子シミュレーションスクール担当)(2021–2025).

分子シミュレーションスクール世話人(2016–).

日本生物物理学会第 61 回年会実行委員(2023).

日本生物物理学会第 61 回生物物理学会年会実行委員(2022–). (大貫 隼)

分子シミュレーションスクール世話人(2022–). (大貫 隼)

B-8) 大学等での講義, 客員

総合研究大学院大学先端学術院, 集中講義「生体分子シミュレーション」, 2023 年 12 月.

B-10) 競争的資金

科研費基盤研究(B), 「細胞膜変形分子マシンの動作メカニズム: 多量体形成と構造変化による膜変形の理論研究」, 岡崎圭一(2022 年度–2025 年度).

科研費若手研究, 「蛋白質サイズの大規模構造遷移に適用可能な反応座標推定法の開発」, 大貫 隼(2023 年度–2025 年度).

C) 研究活動の課題と展望

本グループでは, 生体分子マシンの機能ダイナミクスを理論的な手法で解明して, そのデザイン原理を探索する研究を進めている。回転モーター F_1 -ATPase の阻害因子 IF_1 については, シミュレーションによる解析が進んでおり, その阻害メカニズムに基づいた改変等により新規阻害因子の開発に繋げたい。シュウ酸トランスポーターについては, 今まで未知であった内向き開構造を明らかにしたので, その構造遷移における律速過程についての詳細な分子メカニズムを明らかにしていきたい。細胞膜変形については, 細胞膜切断に関わるダイナミン多量体とチューブ状膜からなるシミュレーション系が構築できたので, 膜切断の分子メカニズムの解明を目指す。