

奥村 久士 (准教授) (2009年5月1日着任)

伊藤 暁 (助教)

谷本 勝一 (特任研究員 (IMS フェロー))

宮澤 和久 (大学院生)

福原 大輝 (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) 赤外自由電子レーザーにより A β アミロイド線維が破壊される際の水分子の役割の解明
- b) レプリカ置換ソルトテンパリング法の開発とアミロイド β フラグメントへの応用
- c) 新型コロナウイルスの RNA 依存性 RNA ポリメラーゼに対する薬剤の作用機構
- d) 新型コロナウイルスと重症急性呼吸器症候群ウイルスの RNA 依存性 RNA ポリメラーゼの活性差を引き起こす機構
- e) クマムシの乾眠に関わるタンパク質の動的性質の解明

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 (A β) ペプチドが凝集してできたアミロイド線維が原因で発症すると言われている。我々は赤外線レーザーを照射して A β の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。アミロイド線維中の C=O と N-H が形成する分子間水素結合は、レーザーパルスが照射されるたびに切断される。しかし、これらの結合は多くの場合その後自然に再形成される。だが、C=O と N-H の間にたまたま水分子が入り込むと水素結合の再形成が阻害され、そこが欠陥となり、分子間 β シートの全ての水素結合が切断されるのである。さらに、レーザーでアミロイド線維を破壊すると α ヘリックス構造が多く形成されることも発見し、その理由も突き止めた。
- b) 生体分子など複雑な自由エネルギー地形を持つ系の構造サンプリングを効率的に行うため、レプリカ交換法などの拡張アンサンブル分子動力学法がよく用いられている。我々はレプリカ交換法よりも効率の良い手法であるレプリカ置換法を最近開発した。この方法では複数の系のコピー (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当て、シミュレーション途中で3つ以上のレプリカの間で温度を置換する。こうすることで各レプリカの温度を上下させ、自由エネルギー極小状態から各系を脱出させる。この方法は2つのレプリカの間で温度を交換するレプリカ交換法よりも強力な方法である。一方、最近注目されている拡張アンサンブル法の一つにレプリカ交換ソルトテンパリング法がある。この方法では溶質に関わるポテンシャルエネルギーにパラメータを導入し、そのパラメータをレプリカ間で交換する。実質的に溶質のみの温度を交換することになるため、計算コストを大幅に減らすことができる。そこで我々はレプリカ置換法とレプリカ交換ソルトテンパリング法を基に計算コストを大幅に減らすことのできるレプリカ置換ソルトテンパリング法を開発した。さらにこの手法を用いてアミロイド β フラグメントの凝集に伴う構造変化を明らかにした。
- c) 新型コロナウイルス感染症に対する治療薬として現在レムデシビルやファビピラビル (商品名アビガン) が注目されている。これらは新型コロナウイルスの RNA 依存性 RNA ポリメラーゼに対する RNA 複製阻害剤として機能する

- と期待されている。RNA ポリメラーゼは通常アデノシン三リン酸 (ATP) などのヌクレオチドを取り込んで RNA を複製する。レムデシビル、ファビピラビルは ATP などと競合して RNA ポリメラーゼに取り込まれて RNA の複製を阻害すると考えられている。我々は分子動力学シミュレーションを実行し、これらの薬剤や ATP の持つ三リン酸の負電荷が RNA ポリメラーゼの結合サイトにある Mg^{2+} イオンに静電相互作用により引き寄せられて結合することを解明した。また、RNA ポリメラーゼには結合サイトに向かって複数のリジンがー列に並んでおり、このリジンの正電荷が「バケツリレー」のように薬剤や ATP を結合サイトに輸送していることも発見した。今回の発見により RNA ポリメラーゼによる効率的なリガンド認識の仕組みを解明した。この成果は NHK や各種インターネットニュースで報道された。特にマイナビニュースでは医療・バイオ分野の週間ニュースランキングで2位になった (2021年8月)。
- d) 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の RNA ポリメラーゼと重症急性呼吸器症候群ウイルス (SARS-CoV) の RNA ポリメラーゼのアミノ酸配列および立体構造はほぼ同じである。しかし、SARS-CoV の RNA ポリメラーゼは SARS-CoV-2 の RNA ポリメラーゼよりも RNA 合成活性の高いことが知られている。我々は分子動力学シミュレーションを行い、両者の動的特性に違いがあることを発見した。具体的には SARS-CoV の RNA ポリメラーゼでは活性部位を形成するモチーフ A-G が最大 63% 接近していること、また SARS-CoV の RNA ポリメラーゼではドメイン間の協調的な動きを示すことを発見した。このような動的な性質の違いが2つの RNA ポリメラーゼの活性差の原因と考えられる。
- e) SAHS タンパク質は、クマムシ特有の熱可溶性タンパク質であり、クマムシの乾眠に必須の役割を果たしていると考えられている。SAHS タンパク質の分子動力学 MD シミュレーションを行い、その動的特性を明らかにした。具体的には① SAHS タンパク質の入口領域はヒトの L 型脂肪酸結合タンパク質に比べて柔軟性があること、② N 末側の天然変性領域は大きく変動し、両親媒性の α ヘリックス構造を形成することがあること、③脱水に伴って入口領域のサイズは小さくなるものの、 β バレル構造は維持されることを明らかにした。本研究はクマムシの乾眠機構に関わるタンパク質のダイナミクスを初めて明らかにしたものであり、今後、乾眠機構の解明に貢献すると考えられる。

B-1) 学術論文

K. MIYAZAWA, S. G. ITOH, H. WATANABE, T. UCHIHASHI, S. YANAKA, M. YAGI-UTSUMI, K. KATO, K. ARAKAWA and H. OKUMURA, “Tardigrade Secretory-Abundant Heat-Soluble Protein Has a Flexible β -Barrel Structure in Solution and Keeps This Structure in Dehydration,” *J. Phys. Chem. B* **125**(32), 9145–9154 (2021). DOI: 10.1021/acs.jpcc.1c04850

S. G. ITOH, S. TANIMOTO and H. OKUMURA, “Dynamic Properties of SARS-CoV and SARS-CoV-2 RNA-Dependent RNA Polymerases Studied by Molecular Dynamics Simulations,” *Chem. Phys. Lett.* **778**, 1388819 (8 pages) (2021). DOI: 10.1016/j.cplett.2021.138819

H. OKUMURA, S. G. ITOH, K. NAKAMURA and T. KAWASAKI, “Role of Water Molecules in the Laser-Induced Disruption of Amyloid Fibrils Observed by Nonequilibrium Molecular Dynamics Simulations,” *J. Phys. Chem. B* **125**(19), 4964–4976 (2021). DOI: 10.1021/acs.jpcc.0c11491

S. TANIMOTO, S. G. ITOH and H. OKUMURA, “‘Bucket Brigade’ Using Lysine Residues in RNA-Dependent RNA Polymerase of SARS-CoV-2,” *Biophys. J.* **120**(17), 3615–3627 (2021). DOI: 10.1016/j.bpj.2021.07.026

D. FUKUHARA, S.G. ITOH and H. OKUMURA, “Replica Permutation with Solute Tempering for Molecular Dynamics Simulation and Its Application to the Dimerization of Amyloid- β Fragments,” *J. Chem. Phys.* **156(8)**, 84109 (12 pages) (2022). DOI: 10.1063/5.0081686

K. MIYAZAWA, S. G. ITOH, Y. YOSHIDA, K. ARAKAWA and H. OKUMURA, “Tardigrade Secretory-Abundant Heat-Soluble Protein Varies Entrance Propensity Depending on the Amino-Acid Sequence,” *J. Phys. Chem. B* **126(12)**, 2361–2368 (2022). DOI: 10.1021/acs.jpcc.1c10788

M. YAMAUCHI, G. LA PENNA, S. G. ITOH and H. OKUMURA, “Implementations of Replica-Permutation and Replica Sub-Permutation Methods into LAMMPS,” *Comput. Phys. Commun.* **276**, 108362 (12 pages) (2022). DOI: 10.1016/j.cpc.2022.108362

B-3) 総説, 著書

多知裕平, 奥村久士, 「糖鎖クラスターとの結合によるアミロイド β の構造変化」, *生物物理*, **61**, 186–188 (2021). DOI: 10.2142/biophys.61.186

S. G. ITOH and H. OKUMURA, “All-Atom Molecular Dynamics Simulation Methods for the Aggregation of Protein and Peptides: Replica Exchange/Permutation and Nonequilibrium Simulations,” in *Computer Simulations of Aggregation of Proteins and Peptides*, M. S. Li, A. Kloczkowski, M. Cieplak and M. Kouza, Eds., Humana; New York, NY, Chap. 10, pp. 197–220 (2022). DOI: 10.1007/978-1-0716-1546-1_10

B-4) 招待講演

H. OKUMURA, “Molecular dynamics simulation of disease-related biomolecules,” 2nd International Conference on Materials Research and Innovation, online, December 2021.

H. OKUMURA, “Role of water molecules and helix-structure stabilization in the laser-induced disruption of amyloid fibrils observed by nonequilibrium molecular dynamics simulations,” Skype seminar, online, May 2021.

奥村久士, 「病気に関係する生体分子の分子動力学シミュレーション」, 生理学研究所ネットワーク型研究加速事業報告会, オンライン開催, 2022年3月.

奥村久士, 「新型コロナウイルスの増殖とアルツハイマー病の発症に関するタンパク質の分子動力学シミュレーション」, スーパーコンピュータワークショップ 2021, オンライン開催, 2022年1月.

奥村久士, 「分子動力学シミュレーションで見る赤外自由電子レーザーによるアミロイド線維の破壊」, 第35回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム企画講演: 赤外自由電子レーザーによる物質研究の現状と未来展望, オンライン開催, 2022年1月.

奥村久士, 「病気に関連するタンパク質に計算物理学で迫る」, 日本物理学会名古屋支部公開講演会「計算物理学への誘い」, オンライン開催, 2021年11月.

奥村久士, 「Molecular Dynamics Simulations for Aggregation and Disaggregation of Amyloid- β Peptides / アミロイド β ペプチドの凝集と解離の分子動力学シミュレーション」, 第59回日本生物物理学会年会シンポジウム「Peptide-Membrane Biophysics: Current Biophysical Studies of Membrane-bound Antimicrobial Peptides and Amyloid Peptides / ペプチド-膜生物物理学: 膜結合抗菌ペプチドおよびアミロイドペプチドの最新生物物理研究」, オンライン開催, 2021年11月.

奥村久士, 「各種統計アンサンブルの生成法」, 第15回分子シミュレーションスクール, オンライン開催, 2021年9月.

奥村久士,「新型コロナウイルス感染症に対する治療薬および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」,分子科学研究所平等グループセミナー,岡崎,2021年8月.

伊藤 暁,「Oligomer formation of proteins studied by generalized-ensemble algorithms」,第59回日本生物物理学会年会シンポジウム「蛋白質系の分子シミュレーションのサンプリング手法の発展／Advances in enhanced sampling methods for molecular simulations of protein systems」,オンライン開催,2021年11月.

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-).

日本生物物理学会第59回年会シンポジウムオーガナイザー (2021).

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-).

B-8) 大学での講義, 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」,2021年12月.

名古屋市立大学大学院薬学研究科,創薬生命科学特別講義「分子動力学シミュレーションで見る病気関連生体分子」,2021年5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

宮澤和久,「クマムシ特有の分泌型熱安定性タンパク質の分子動力学シミュレーション」,2022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-2024年).

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-2024年).

科研費基盤研究(C),「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-2024年).

C) 研究活動の課題と展望

- a) アルツハイマー病以外にもタンパク質凝集体が引き起こす病気が知られており,それらのタンパク質凝集体に赤外線レーザーを照射し治療に役立てようとする試みがある.そこで次にハンチントン病などのポリグルタミン病の原因であるポリグルタミン鎖に対してレーザー照射する非平衡分子動力学シミュレーションを行う.その破壊過程をA β アミロ

イド線維の場合と比較, 議論する。

- b) ポリフェノールにはA β ペプチドの凝集を阻害する効果がある。そこでポリフェノールと複数本のA β (16-22) ペプチドのシミュレーションを行い, ポリフェノールが凝集を阻害するメカニズムを解明する。我々が最近開発したレプリカ置換ソルトテンパリング法を用いて効率的にこれを実行する。
- c) 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。
- d) 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を分子動力学シミュレーションで解明する。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。