

## 戦略的国際共同研究プログラム(SICORP)

日本-カナダ共同研究

終了報告書 概要

1. 研究課題名: 「MD と 3D-RISM 理論による COVID-19 スパイクタンパク質と ACE2 タンパク質間相互作用におけるアロステリック効果の解明」
2. 研究期間: 令和 3 年 5 月～令和 4 年 2 月
3. 主な参加研究者名:  
日本側チーム

	氏名	役職	所属	研究分担
研究代表者	吉田紀生	准教授	九州大学	研究の総括
主たる共同研究者	光武亜代理	准教授	明治大学	MDシミュレーション
主たる共同研究者	丸山豊	客員研究員	明治大学	3D-RISM計算・プログラム開発
主たる共同研究者	黒田明義	技師	理化学研究所	スーパーコンピュータ実装
研究参加者	金丸恒大	学生	九州大学	計算補助
研究参加者	藤木涼	学生	九州大学	計算補助
研究参加者	岡本大介	学生	九州大学	計算補助
研究参加者	小六隼平	学生	明治大学	計算補助
研究参加者	野口大輝	学生	明治大学	計算補助
研究参加者	横井駿	学生	明治大学	計算補助
研究期間中の全参加研究者数			10名	

## 相手側チーム

	氏名	役職	所属	研究分担
研究代表者	Sergey Gusarov	Senior Research Officer	National Institute for Nanotechnology, National Research Council Canada	スクリーニング手法の開発
主たる共同研究者	Alexander Kobryn	Senior Research Officer	National Institute for Nanotechnology, National Research Council Canada	スクリーニング手法の開発
研究期間中の全参加研究者数			2名	

## 4. 国際共同研究の概要

本研究では、分子動力学 (MD) シミュレーションと生体分子の溶媒和理論である 3D-RISM 法を用いて、SARS-CoV-2 などのウイルス-細胞、ウイルス-リガンド (薬剤候補分子) 結合時の相互作用におけるアロステリック効果を解明することを目的とする。本研究により、SARS-CoV-2 などのウイルスに有効な薬剤候補分子の効率的なスクリーニングへの貢献が期待される。

## 5. 国際共同研究の成果

## 5-1 国際共同研究の学術成果および実施内容

アンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2) と SARS-CoV-2 スパイクタンパク受容体結合ド

メイン(RBD)の結合過程を MD シミュレーションおよび 3D-RISM 法を用いて検討した。

タンパク質結合過程を、タンパク質-タンパク質間の距離が近づいていく接近ステップと、十分に接近してからタンパク質結合部位の局所的な構造変化が起こる結合ステップに分けて、それぞれについて検討を行った。接近ステップでは、タンパク質間の直接的な相互作用はタンパク質の接近にともなって安定化し、周りの水やイオンとの相互作用（溶媒和自由エネルギー）は不安定化することが示された。構造的な特徴として、タンパク質が接近するとまず ACE2 の糖鎖が RBD と水素結合を形成することが示された。その後、結合ステップに入り、結合部位のアミノ酸側鎖の構造変化により、タンパク質間の水素結合数が急速に増加した。溶媒の空間分布関数から、RBD-ACE2 界面には水分子によって橋渡しされた水素結合が存在することが明らかになった。また、主成分分析を行い、結合過程において ACE2 は顕著な構造変化を示すが、RBD にはそのような変化が見られないことがわかった。この研究成果は、*Journal of Chemical Information and Modeling* 誌に掲載が決定している。

また並行して、薬剤候補分子のスクリーニングも行った。先行研究で提案されている候補分子に対してドッキング解析を行い、さらに有力候補を絞り込んだ。この有力候補に対して、MD シミュレーションおよび 3D-RISM 法による結合自由エネルギー解析を行った。また、主成分分析により薬剤候補が結合することによるタンパク質構造変化についても解析を行った。この研究成果は現在データを精査中であり、今後、研究論文として投稿する予定である。

## 5-2 国際共同研究による相乗効果

本研究に参画した、日本・カナダの両グループはともに 3D-RISM 理論を専門とするグループであり、方法論の開発とその応用を活発に行ってきた。このような中、本国際共同研究によって、互いの持っている方法論、ソフトウェアを相補的に用いることで効率的な解析が可能となった。

また、本研究を実施したことで新しい方法論の着想を得たことで、今後のさらなる発展を期待している。

## 5-3 国際共同研究成果の波及効果と今後の展望

本国際共同研究で用いた、3D-RISM のプログラムコードおよび得られたトラジェクトリデータ・3D-RISM データをウェブにて公開しており、それらを利用した研究への波及効果が期待される。また、本研究を実施したことで新しい方法論の着想を得ており、今後のさらなる共同研究の発展が期待できる。

Strategic International Collaborative Research Program (SICORP)  
Japan – Canada Joint Research Program  
Executive Summary of Final Report

1. Project title : 「 MD and 3D-RISM study of the allosteric effects on the interaction between COVID-19 spike and ACE2 protein 」
2. Research period : May 2021 ~ February 2022
3. Main participants :  
Japan-side

	Name	Title	Affiliation	Role in the research project
PI	Norio Yoshida	Associate Professor	Kyusyu University	Management
Co-PI	Ayori Mitsutake	Associate Professor	Meiji University	MD simulation
Co-PI	Yutaka Maruyama	Adjunct Researcher	Meiji University	3D-RISM calculation and program development
Co-PI	Akiyoshi Kuroda	Technical Staff	RIKEN	Supercomputer implementation
Collaborator	Kodai Kanemaru	Student	Kyushu University	Research Assistant
Collaborator	Ryo Fujiki	Student	Kyushu University	Research Assistant
Collaborator	Shunpei Koroku	Student	Meiji University	Research Assistant
Collaborator	Daiki Noguchi	Student	Meiji University	Research Assistant
Collaborator	Shun Yokoi	Student	Meiji University	Research Assistant
Total number of participants throughout the research period:				10

## Partner-side

	Name	Title	Affiliation	Role in the research project
PI	Sergey Gusarov	Senior Research Officer	National Institute for Nanotechnology, National Research Council Canada	Development of screening methods
Co-PI	Alexander Kobryn	Senior Research Officer	National Institute for Nanotechnology, National Research Council Canada	Development of screening methods
Total number of participants throughout the research period:				2

## 4. Summary of the international joint research

This research employs molecular dynamics (MD) simulation and three-dimensional reference interaction site model (3D-RISM) method to investigate the allosteric effect of ligand binding on the interaction between receptor-binding domain (RBD) and

angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in the virus-cell fusion process of SARS-CoV-2. The research will contribute to efficient screening for drugs which work to inhibit RBD-ACE2 binding in the virus-cell fusion process of SARS-CoV-2.

## 5. Outcomes of the international joint research

### 5-1 Scientific outputs and implemented activities of the joint research

The binding process of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) to the SARS-CoV-2 spike protein receptor binding domain (RBD) was investigated using MD simulation and 3D-RISM methods.

The protein-binding process is divided into two steps: an approach step, in which the protein-protein distance approaches, and a binding step, in which a local conformational change in the protein-binding site occurs after sufficient approach. In the approaching step, direct protein-protein interactions stabilize as the proteins approach each other, while interactions with surrounding water and ions (solvation free energy) become destabilized. As a structural feature, it was shown that the sugar chain of ACE2 first forms a hydrogen bond with the RBD when the proteins approach. Then, in the binding step, the number of hydrogen bonds between proteins increased rapidly due to conformational changes in the amino acid side chains of the binding site. The spatial distribution function of the solvent revealed the presence of hydrogen bonds bridged by water molecules at the RBD-ACE2 interface. Principal component analysis revealed that ACE2 exhibits significant structural changes during the bonding process, while RBD shows no such changes. The results of this research have been accepted for publication in the Journal of Chemical Information and Modeling.

In parallel, the screening of drug candidate molecules was also conducted. Docking analysis was performed on the candidate molecules proposed in previous studies to further qualify the most promising candidates. MD simulations and binding free energy analysis using the 3D-RISM method were performed on these promising candidates. We also analyzed the protein conformational changes caused by the binding of the drug candidates by principal component analysis. The results of this research are currently being reviewed and will be submitted as a research paper.

### 5-2 Synergistic effects of the joint research

Both the Japanese and Canadian groups participating in this study are specialized in 3D-RISM theory and have been actively developing methodologies and their applications. In this context, this international joint research has enabled efficient analysis by using each other's methodologies and software in cooperation.

In addition, we hope that this study has inspired a new methodology, which we expect to be further developed in the future.

### 5-3 Scientific, industrial or societal impacts/effects of the outputs

The 3D-RISM program code used and the obtained trajectory data and 3D-RISM data are available on the web, which is expected to have a ripple effect on research using them. This research has also inspired a new methodology, which is expected to lead to further collaborative research in the future.

## 国際共同研究における主要な研究成果リスト

### 1. 論文発表等

\*原著論文 (相手側研究チームとの共著論文) 発表件数: 計 1 件

・査読有り: 発表件数: 計 1 件

"Computational Analysis of the SARS-CoV-2 RBD-ACE2-Binding Process Based on MD and the 3D-RISM Theory", Norio Yoshida, Yutaka Maruyama, Ayori Mitsutake, Akiyoshi Kuroda, Ryo Fujiki, Kodai Kanemaru, Daisuke Okamoto, Alexander E. Kobryn, Sergey Gusarov, Haruyuki Nakano, J. Chem. Info. Model. (2022) In press (DOI: doi.org/10.1021/acs.jcim.2c00192)

### 2. 学会発表

\*口頭発表 (相手側研究チームとの連名発表)

発表件数: 計 0 件 (うち招待講演: 0 件)

\*口頭発表 (相手側研究チームを含まない日本側研究チームの発表)

発表件数: 計 4 件 (うち招待講演: 4 件)

\*ポスター発表 (相手側研究チームとの連名発表)

発表件数: 計 0 件

\*ポスター発表 (相手側研究チームを含まない日本側研究チームの発表)

発表件数: 計 0 件

### 3. 主催したワークショップ・セミナー・シンポジウム等の開催

1. Pacificchem2021 Multiscale methods for modeling of bio- and macromolecular systems in a complex environment (#215) オンライン 2021 年 12 月 22 日

### 4. 研究交流の実績 (主要な実績)

【オンラインミーティング】

・両国のチームメンバーを交えて zoom ミーティングを不定期に開催した。

### 5. 特許出願

研究期間累積出願件数: 0 件

### 6. 受賞・新聞報道等

なし

### 7. その他

【オープンサイエンスにかかる取り組み】

・開発ソフト「3D-RISM-CUDA-mpi」:

(URL: <https://github.com/drmaruyama/3D-RISM-CUDA-MPI.git>)

・トラジェクトリデータを Github に登録した:

(URL: [https://github.com/nyoriwo/SI\\_ci-2022-00192m.git](https://github.com/nyoriwo/SI_ci-2022-00192m.git))