

舘野 賢・姜 志始
Tateno, M., Kang J.

転写制御メカニズムを理解するためには、転写因子とゲノムDNAとの結合サイト（塩基配列）を正確に同定することが不可欠である。近年、次世代シーケンサを用いて、転写因子によるDNA認識サイトの同定が、ゲノムワイドに可能となってきた（ChIP-Seqなどの解析法）。しかし、こうして得られる大量の塩基配列データから、転写因子の結合配列パターン（Transcription Factor Binding Motif; TFBM）を同定するための情報解析法は、これまで十分な精度が得られなかった。本年度は、生命機能の制御に関連する様々なTFBMを、ChIP-Seqなどの大規模データから高精度に同定するための情報統計学的理論を創出し、新規の解析システムMODICを開発した。現在これを様々な転写制御システムへ応用しており、転写制御メカニズムを原子解像度および電子レベルで解明するための研究へと展開を図る予定にある。

I 生物機能メカニズムの理論解析および 新規理論解析技術等の開発

Theoretical studies of functional mechanisms based on
molecular and electronic structures of biological macromolecular systems

我々は、生物機能のメカニズムを、生体高分子の分子構造・立体構造、電子構造などに基づいて、理論的に解明することを目的に研究を展開している。同時に、こうした研究を推進するための新規理論および解析技術の開発とその実装を進め、大規模演算によるそれらの応用の基盤を構築すると共に、従来は実現できなかった解析を、これらの新手法によって可能にするための統合的な技術開発を推進している。

本年度は特に、転写因子とゲノムDNAが認識・結合する塩基配列を、正確に同定する情報解析システムの開発に成功した。これは、次世代シーケンサから得られる大規模・塩基配列デー

データを情報統計学的に解析し、転写因子の結合するサイトを高精度に同定する手法である。ゲノムDNAにおける遺伝子の位置以外に、生物学的な情報を一切用いることなく、ChIP-Seqなどのデータを自動的に解析できる。様々な転写制御ネットワークシステムのそれぞれについて、ゲノムワイドな様相の全貌を解明するために、不可欠な解析法である。

データの情報処理においては、実験的にシグナルが強く得られるパターンが、生物学的に重要な情報であるとは限らない。むしろ微量で弱い相互作用（DNA-タンパク質複合体）を有する対象が、生物学上、重要な役割を果たしている場合も多い。MODICは、実験データのピーク強度などに依存せず、また生物学的な情報を用いることなく、高い解析精度を有する我々の新たな情報統計理論を実装している。同じ目的を有する既存のシステムの中で、MODICは国際的にも最も優れたものであることが、本年度明らかになった。

現在、様々な転写制御メカニズムの解析にMODICを応用した研究が進行している。生命機能の解析には、こうした情報統計学的な理論と技術が不可欠である。さらに転写因子の中には、結合したゲノムDNAと反応し、酵素のはたらきを有する重要な系もある。そこで、既に様々な応用を展開している「ハイブリッドQM/MM MD計算システム」（23年度年報などを参照）などを、MODICによるゲノムワイドな解析法と組み合わせることで、ゲノムDNA全体を生体反応場とした、様々な生物機能の制御メカニズムの解析へと研究を展開したいと考えている。

また近年、iPS細胞などによる再生医療が、極めて脚光を浴びる状況に至っている。その機能メカニズムの研究が、今後ますます重要となる。そうした中で、「エピジェネティック制御」（後天的に生じるゲノムDNAの化学的な変化）は、その鍵を握る生物機能である（例えば *Nature Biotech.*, 28 (2010), 1057-1068 などを参照）。中でも「DNAメチル化反応」は最も重要な系であるが、その反応メカニズムに関しては、これまで複数の解析結果が互いに矛盾しているなど、正確なメカニズムがまだ明らかにされていない。そのため最近、時分割・蛍光測定法など、反応ダイナミクスを解析する研究が急速に進みつつあり、まさに今、時宜を得た課題であるといえる。

本年度は、こうした困難な系に、我々の高精度な「ハイブリッドQM/MM MD 計算」を適用し、反応メカニズムの全貌の解明を目指している。計算モデルにおけるプロトネーションの状態を正確に同定することにより、本年度は安定な立体構造モデルを構築することに成功した。実際、20 ns の MD計算においても、我々の計算モデルは非常に安定に立体構造を保持することが分かった。

さらにハイブリッドQM/MM MD 計算を実行した。その結果、Glu 残基側鎖のプロトンが移動することによって、ふたつの反応経路（ポテンシャル曲面上のふたつのエネルギー曲線）を遷移しながら、以って最適反応経路が選択され、メチル化反応の進むことが明らかになってきた。さらに詳細なメカニズムおよび電子構造の解析が進行中であり、それによって、わずか1個のプロトン移動により、反応経路が的確に選択・制御されている仕組みなどを解明する予定である。これは、iPS細胞や最先端の分子設計（ドラッグ・デザイン）技術などへの応用にも寄与し得る喫緊の重要な研究課題であり、以ってその研究水準を飛躍的に発展させるための基盤を構築したいと考えている。

発表論文 List of Publications

1. Jiyoung Kang, Shigehide Kuroyanagi, Akimsa Akisada, Yohsuke Hagiwara, and Masaru Tateno, Unidirectional mechanistic valved mechanisms for ammonia transport in GatCAB, *J. Chem. Theory Comp.*, **8** (2012), 649-60.
2. Jiyoung Kang, Yohsuke Hagiwara, and Masaru Tateno, Biological applications of hybrid quantum mechanics / molecular mechanics calculation, *J. Biomed. Biotech.*, 2012 (2012), 236157.
3. Ryo Nakaki, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, A novel *ab initio* identification system of transcriptional regulation motifs in genome DNA sequences, *Nucleic Acids Research*, **40** (2012), 8835.
4. J. Kang, S. Kuroyanagi, Y. Hagiwara, and M. Tateno, Substrate transport mechanisms in GatCAB: the smallest unidirectional valve in subnano scale, 第50回日本生物物理学会年会, 2012年9月22日~9月24日, 名古屋.
5. M. Tateno, R. Nakaki, and J. Kang, MODIC: a novel *ab initio* identification system of transcription factor binding motifs in genome DNA sequences, 第50回日本生物物理学会年会, 2012年9月22日~9月24日, 名古屋.
6. M. Tateno, R. Nakaki, and J. Kang, Development and evaluation of a novel identification algorithm of transcription factor binding motifs in genome DNA sequences, 第35回日本分子生物学会年会, 2012年12月11日~12月14日, 福岡.
7. M. Tateno, R. Nakaki, and J. Kang, Development and implementation of a novel algorithm for identification of transcription factor binding motifs in genome DNA sequences, 第85回日本生化学会大会, 2012年12月14日~12月16日, 福岡.
8. S. Yoshikawa, M. Kubo, S. Nakashima, S. Yamaguchi, T. Ogura, M. Mochizuki, J. Kang, M. Tateno, K. Muramoto, K. Shinzawa-Itoh, Nanosecond time-resolved infrared basis for a bulge of the transmembrane helix between hemes *a* and *a₃* to facilitate highly efficient proton pumping by bovine heart cytochrome c oxidase, EBEC2012 17th European Bioenergetics Conference, 2012年9月15日~9月20日, ドイツ.
9. J. Kang and M. Tateno, Computational investigation of the electronic structure of the Cu_A site in bovine cytochrome c oxidases: the functional role of the axial methionine residue, EBEC2012 17th European Bioenergetics Conference, 2012年9月15日~9月20日, ドイツ.
10. M. Tateno, T. Matsuoka and J. Kang, Theoretical investigation of the potential field of the binuclear center of bovine cytochrome c oxidase, EBEC2012 17th European Bioenergetics Conference, 2012年9月15日~9月20日, ドイツ.
11. T. Matsuoka, J. Kang and M. Tateno, Theoretical analysis of the electronic structure of Cu_B site of bovine cytochrome c oxidase, 第50回日本生物物理学会年会, 2012年9月22

- 日～9月24日, 名古屋.
12. T. Itagaki, J. Kang and M. Tateno, Theoretical analysis of fully-hydrated structures of human adult hemoglobin exploiting molecular dynamics simulations, 第50回日本生物物理学会年会, 2012年9月22日～9月24日, 名古屋.
 13. A. Nakamura, J. Kang, M. Tateno, Theoretical evaluation of structural stability of the active site of T1 lipase: cation-□ vs. water□□ interactions, 第50回日本生物物理学会年会, 2012年9月22日～9月24日, 名古屋.
 14. 館野 賢、ヘモグロビンにおける動的構造の役割 ～生命のはたらきのメカニズムに基づく医薬品のデザインを目指して～、兵庫県立大学シンポジウム、2012年9月24日、神戸.
 15. Toru Matsuoka, Jiyong Kang and Masaru Tateno, Computational analysis of the electronic and geometric structures of the CO bound in CuB site of the bovine cytochrome c oxidase, 第35回日本分子生物学会年会, 2012年12月11日～12月14日, 福岡.
 16. Tetsuhiko Itagaki, Jiyong Kang and Masaru Tateno, Computational investigation of cooperativity of oxygen affinity of human adult hemoglobin utilizing multiple molecular dynamics simulations, 第35回日本分子生物学会年会, 2012年12月11日～12月14日, 福岡.
 17. Atsushi Nakamura, Jiyong Kang, Masaru Tateno, Cation-□□ vs. water□□: computational evaluation of structural stability of the active site of T1 lipase, 第35回日本分子生物学会年会, 2012年12月11日～12月14日, 福岡.
 18. Jiyong Kang, Shigehide Kuroyanagi, Yohsuke Hagiwara, and Masaru Tateno, Asymmetric substrate-transport mechanisms of GatCAB revealed by molecular dynamics simulations, 第35回日本分子生物学会年会, 2012年12月11日～12月14日, 福岡.
 19. Masaru Tateno, Ryo Nakaki, and Jiyong Kang, Development and evaluation of a novel identification algorithm of transcription factor binding motifs in genome DNA sequences, 第35回日本分子生物学会年会, 2012年12月11日～12月14日, 福岡.
 20. Toru Matsuoka, Jiyong Kang and Masaru Tateno, Theoretical analysis of catalytic reaction fields of CuB site in cytochrome c oxidase by ab initio quantum mechanics calculations, 第85回日本生化学会大会, 2012年12月14日～12月16日, 福岡.
 21. Tetsuhiko Itagaki, Jiyong Kang and Masaru Tateno, Structural basis of oxygen-affinity and its cooperativity of human adult hemoglobin revealed by multiple molecular dynamics simulations, 第85回日本生化学会大会, 2012年12月14日～12月16日, 福岡.
 22. Atsushi Nakamura, Jiyong Kang, Masaru Tateno, A novel protein structural element involving Na⁺-□ interaction revealed in the activesite of T1 lipase, 第85回日本生化学会大会, 2012年12月14日～12月16日, 福岡.
 23. Jiyong Kang, Shigehide Kuroyanagi, Yohsuke Hagiwara, and Masaru Tateno, Unidirectional mechanistic valved mechanisms for substrate transport in GatCAB, 第

- 85 回日本生化学会大会, 2012 年 12 月 14 日～12 月 16 日, 福岡.
24. Masaru Tateno, Ryo Nakaki, and Jiyoung Kang, Development and implementation of a novel algorithm for identification of transcription factor binding motifs in genome DNA sequences, 第 85 回日本生化学会大会, 2012 年 12 月 14 日～12 月 16 日, 福岡.
25. Toru Matsuoka, Jiyoung Kang and Masaru Tateno, シトクロム酸化酵素とリガンドとの相互作用における電子構造の解析, CREST/さきがけ 合同キックオフミーティング, 2012 年 12 月 19 日～12 月 20 日, 静岡.
26. 姜 志始・武田拓也・橘田和志・舘野 賢、タンパク質間相互作用機構の解析アルゴリズムの開発と応用、CREST/さきがけ 合同キックオフミーティング、2012 年 12 月 19 日～12 月 20 日、静岡.
27. 舘野 賢・姜 志始、シトクロム酸化酵素における Cu_A サイトの電子構造の解析、CREST/さきがけ 合同キックオフミーティング、2012 年 12 月 19 日～12 月 20 日、静岡.

科学研究費補助金等

1. ひょうご県科学技術協会助成金 平成 24～25 年度