

生物機能メカニズムの理論解析および
新規理論解析技術の開発

Theoretical studies of functional mechanisms based on
3D molecular and electronic structures of biological macromolecular systems

舘野 賢・姜 志始
Tateno, M. and Kang J.

生命機能を担う実体は、生体高分子と、他の生体分子(リガンドと呼ばれる)との相互作用にある。多様なリガンドが、多様な生体高分子の“扉”を次々と叩いていく(Open the doors!),それが生命のはたらき(生物機能)の源泉である。したがって生命のメカニズムの本質を解明するためには、生体高分子とそれらに結合するリガンド(他の生体高分子や、低分子量・化合物など)が生み出す「立体構造と電子構造のダイナミクス」を、基本原理に基づいて理解することが不可欠である。

そのために本研究室では、生物機能のメカニズムを、DNA, RNA, タンパク質などの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としている。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行い、スーパーコンピュータなどを駆使した大規模演算(High Performance Computing; HPC)によって、それらの応用の基盤を構築すると共に、実験では解明できない生命の本質的な理解を、これらの新手法によって実現にするための統合的な技術開発を進めている。

これらの研究によって、生体高分子がどのようなアーキテクチャによって形成されているか、またそれがどのような原理に基づいて実現されてきたかなど、分子進化における原理的な変遷を含め、生命科学におけるより根源的な課題を解決することを目的としている。そのためには、生命物理学や生命情報学における理論研究が不可欠であり、それら無しには実験結

果の解析さえも不可能な場合が、先端的研究では普段に見られる。本研究室ではさらに、それらを基盤とした応用も展開している所である。

I. 生体高分子における電子移動経路の形成メカニズムの理論的解明

ヒドロゲナーゼは、水素(H₂)の生成および分解の両反応を触媒し、主に微生物が保持する酵素である。酸素(O₂)の存在下においても活性を維持する酸素耐性ヒドロゲナーゼも存在し、燃料電池の極板など、実用的な用途への応用も期待されている。そのため近年、ヒドロゲナーゼによる触媒反応、特にその酸素耐性発現のメカニズムが、国際的に精力的な研究の対象とされてきた。我々は、膜結合性ヒドロゲナーゼ(Membrane-Bound Hydrogenase; MBH)が有するNi-Fe 活性部位最近傍の[4Fe-3S] クラスタ(プロキシマル・クラスタ)の電子構造を理論的に調べて、酸素耐性発現のメカニズムを電子状態に基づいて解明することを目的に、本年度の研究を行った。

最近、膜結合性ヒドロゲナーゼにおいて、プロキシマル・クラスタが超酸化状態に遷移した際に、鉄(Fe)原子に水酸基(OH-)が結合することが同定された。しかし、その機能的な役割はほとんど不明である。そこで我々は、プロキシマル・クラスタの電子状態が、水酸基の結合によってどのような影響を受けるかについて、*ab initio* 電子構造計算を駆使して解析した。その結果、プロキシマル・クラスタ(超酸化状態)のフロンティア軌道は、水酸基の結合により大きく変化することが明らかになった。

これまでに、酸素によるNi-Fe 活性部位の不活性化、およびその再活性化(酸素耐性)の双方で、プロキシマル・クラスタへの電子移動が重要な役割を果たすことが明らかになっている。こうした電子移動と密接な連関を有すると考えられる分子軌道は、非占有最低軌道(LUMO)等である。そこで我々は、分子軌道とそれらを構成する原子軌道に関する詳細な軌道解析を行い、LUMO などに対する水酸基の影響を詳細に解析した。その結果、プロキシマル・クラスタに水酸基が結合していない場合には、LUMO はひとつの Fe 原子(Fe4)に局在化するのに対して、水酸基が Fe 原子(Fe1)に結合すると、その近傍に存在する2個の硫黄(S)原子および1個の Fe 原子(Fe4)の最外殻電子軌道と混成を形成することにより、LUMO の非局在化が誘導されることを明らかにした。

他方で我々は、プロキシマル・クラスタへ電子を供給し得る電子移動経路を同定するために、経験的な探索法によって解析し、上述の電子構造解析とは独立に、電子移動経路の候補を見出した。これらの解析結果により、水酸基が結合していないプロキシマル・クラスタのLUMO(局在)は、電子移動経路探索計算によって同定された電子移動経路と空間的にほとんど無関係であるのに対して、水酸基が結合したプロキシマル・クラスタのLUMO(非局在)は、同定された電子移動経路上に存在し、両者が非常によく重なっていることが分かった。これは、

プロキシマル・クラスタへ電子を供給するための電子移動経路が、水酸基の結合によって誘導・形成されることを意味するものである。

このようにして、プロキシマル・クラスタにおける電子移動経路の形成メカニズムが、電子構造レベルで初めて詳細に明らかになった。本研究の解析対象である膜結合性ヒドロゲナーゼは、その酸素耐性発現のメカニズムの研究が国際的にも極めて精力的に推進されており、近年では、機能部位の酸化還元状態、電子・プロトン輸送、およびそれらに伴う酵素の立体構造変化などについて、関連性が明らかになってきた。他方で、酵素の酸化還元状態の遷移に伴うそれらのメカニズムを、電子構造のレベルで解明しようとする研究は、Ni-Fe 活性部位などにいまだ限られている。本研究は、酸素耐性の発現に不可欠なプロキシマル・クラスタの役割と、OH⁻イオン結合の役割、さらにはそのメカニズムの詳細を、電子構造解析に基づいて明らかにした初めての研究であり、先鋭的な成果といえるものである。

したがって本研究の成果は、膜結合性ヒドロゲナーゼの電子およびプロトン輸送メカニズムや他の酸化還元状態への遷移、およびそれらに伴う酵素の立体構造変化など、今後の研究における基盤になり得るものである。さらには、他のヒドロゲナーゼにおける電子構造や酸素耐性メカニズムとの異同を探究し、統合的なメカニズムを電子構造レベルで解明するためにも、将来の研究の基礎となり得るものである。これは、生体高分子における電子移動経路が、微細な分子種(例えば OH⁻)の結合により制御・生成され得ることを意味するものである。

発表論文 List of Publications

原著論文

- 1) Jaehyun Kim, Jiyoung Kang, Hiroshi Nishigami, Hiori Kino, and Masaru Tate no, *Ab Initio* Electronic Structure Calculation of [4Fe-3S] Cluster of Hydrogenase as Dihydrogen Dissociation/Production Catalyst, *J. Phys. Soc. Jpn*, **87** (2018), 034804

国際会議

招待講演

- 2) Kang, J. and Tateno, M., Dynamical mechanisms of biological macromolecular systems investigated by *ab initio* electronic structure calculations coupled to molecular dynamics, EMN Meeting on Quantum 2017, 2017/6/18-2017/6/22, Vienna, Austria.
- 3) Masaru Tateno, Toward understanding what life is, by unification of physical and information sciences, Mini Symposium on Computational Neurobiology, 2017/8/16, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea
- 4) Jiyoung Kang, Energy landscape analyses of biological systems: from quantum

molecular dynamics to brain dynamics, Mini Symposium on Computational Neurobiology, 2017/8/16, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

- 5) Jiyoung Kang, Rational Molecular Design of novel compounds to regulate neuronal and cognitive functions in central nervous system, coupled with development of information system for identification of off-targets, University of Hyogo Leading Program International Symposium 2017, 2017/12/4-12/5, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan

国際会議

ポスタ発表等

- 6) Jaehyun Kim, Theoretical identification of frontier orbitals that are possibly responsible for electron transfer in hydrogenases with oxygen-tolerance, EMN Vienna & CC Beam Physics, 2017/6/22, ARCOTEL Wimberger Vienna Hotel, Vienna, Austria
- 7) Masaru Tateno, Jiyoung Kang, Hiori Kino, and Martin J. Field, Dynamical Electronic Structure Rearrangements in Hybrid Ribozyme/Protein Catalysis by Complex of Leucyl-tRNA synthetase (LeuRS) and Mis-aminoacylated tRNA^{Leu}, University of Hyogo Leading Program International Symposium 2017, 2017/12/4-2017/12/5, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan
- 8) Jiyoung Kang, Takuya Sumi, Hiroshi Yamaguchi, and Masaru Tateno, Rational Design of Drug for PET Imaging Acting as a Probe Specific to Glutamate Transporter and Development of Information System for Identification of Off-Targets University of Hyogo Leading Program International Symposium 2017, 2017/12/4-2017/12/5, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan
- 9) Jaehyun Kim, Jiyoung Kang, Hiori Kino, and Masaru Tateno, *Ab Initio* Electronic Structure Calculation of Iron-Sulfur Cluster in Proximity of Active Site of Hydrogenase with Oxygen Tolerant Hydrogen Dissociation/Formation Activity, University of Hyogo Leading Program International Symposium 2017, 2017/12/4-2017/12/5, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan
- 10) Atsushi Nakamura, Jiyoung Kang, Hiori Kino, Yasufumi Umena, Keisuke Kawakami, Shen Jian-Ren, Nobuo Kamiya, and Masaru Tateno, Theoretical investigation of novel Cl-dependent H⁺ transfer pathway in water oxidation reaction cycle of photosystem II, University of Hyogo Leading Program International Symposium 2017, 2017/12/4-2017/12/5, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan

- 11) Hiroshi Nishigami, Jiyoung Kang, Kakeru Sakabe, Kuniaki Sano, Kimiko M. Tsutsui, Ken Tsutsui, Kazuhiko Yamasaki, and Masaru Tateno, Structural and thermodynamic mechanisms of selective binding of supercoiled DNA recognition peptide to left-handed DNA crossover , University of Hyogo Leading Program International Symposium 2017, 2017/12/4-2017/12/5, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan,
- 12) Takuya Sumi, Asuka Sugimoto, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Information Geometry Manifold to Describe Combined Knowledge-Free and Data-Driven Strategies for *Ab Initio* Identification of Transcription Factor Binding Motifs , University of Hyogo Leading Program International Symposium 2017, 2017/12/4-2017/12/5, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan
- 13) Kakeru Sakabe, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Computational analysis of catalytic mechanism of post transfer editing by complex of valyl-tRNA synthetase (ValRS) and mis-aminocylated tRNA^{Val} employing hybrid *ab initio* quantum mechanics/molecular mechanics molecular dynamics simulation, University of Hyogo Leading Program International Symposium 2017, 2017/12/4-2017/12/5, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan
- 14) Ryuichiro Terada, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Computational analysis of dynamical mechanisms of structural changes of cytochrome c oxidase upon ligand-binding employing hybrid *ab initio* quantum mechanics (QM)/molecular mechanics (MM) molecular dynamics (MD) simulation , University of Hyogo Leading Program International Symposium 2017, 2017/12/4-2017/12/5, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan
- 15) Takuya Sumi, Asuka Sugimoto, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Combined Knowledge-Free and Data-Driven Strategy for *Ab Initio* Identification of Transcription Factor Binding Motifs, The Sixteenth Asia Pacific Bioinformatics Conference, 2018/1/15-2018/1/17, Yokohama, Japan
- 16) Masaru Tateno, Jiyoung Kang, and Kazuhiko Yamasaki, Novel algorithm for Multicomponent Decomposition of Multivariate Data Coupled with Simulated Annealing-Extended Sampling, The Sixteenth Asia Pacific Bioinformatics Conference, 2018/1/15-2018/1/17, Yokohama, Japan
- 17) Masaru Tateno, Jiyoung Kang, and Kazuhiko Yamasaki, Nobel algorithm for identification of operon-like gene clusters in eukaryotic whole genome DNA sequences, The Sixteenth Asia Pacific Bioinformatics Conference, 2018/1/15-2018/1/17, Yokohama, Japan
- 18) Ryu-ichiro Terada, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Theoretical analysis of

- atomistic mechanisms of biological functions employing classical and hybrid *ab initio* quantum molecular dynamics simulations, The Final Evaluation Conference of the Leading Program, University of Hyogo, 2018/3/12-2018/3/13, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan
- 19) Jaehyun Kim, Jiyoung Kang, Hiroshi Nishigami, Hiori Kino, and Masaru Tateno
Theoretical analysis of electronic structure of unprecedented [4Fe-3S] cluster identified in hydrogenases employing *ab initio* calculation, The Final Evaluation Conference of the Leading Program, University of Hyogo, 2018/3/12-2018/3/13, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan
 - 20) Masaru Tateno, Jiyoung Kang, Hiori Kino, and Martin J. Field, Dynamical Rearrangements of Electronic Structure in Hybrid Ribozyme/ Protein Catalysis by Complex of Leucyl-tRNA Synthetase (LeuRS) and Mis-aminoacylated tRNA^{Leu}, The Final Evaluation Conference of the Leading Program, University of Hyogo, 2018/3/12-2018/3/13, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan
 - 21) Kakeru Sakabe, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Analysis of catalytic mechanism of post-transfer editing by threonyl- tRNA^{Val}•valyl-tRNA synthetase complex employing hybrid *ab initio* quantum mechanics (QM) molecular dynamics (MD) simulation, The Final Evaluation Conference of the Leading Program, University of Hyogo, 2018/3/12-2018/3/13, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan
 - 22) Atsushi Nakamura, Jiyoung Kang, Hiori Kino, Yasufumi Umena, Keisuke Kawakami, Shen Jian-Ren, Nobuo Kamiya, and Masaru Tateno, Theoretical analysis of novel Cl-dependent H⁺ transfer pathway in water oxidation reaction of photosystem II, The Final Evaluation Conference of the Leading Program, University of Hyogo, 2018/3/12-2018/3/13, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan
 - 23) Yoshiaki Tanaka, Kakeru Sakabe, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Development of computer program to identify H-atom positions in biological macromolecular systems and its application, The Final Evaluation Conference of the Leading Program, University of Hyogo, 2018/3/12-2018/3/13, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan
 - 24) Takuya Sumi, Hiroshi Yamaguchi, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Development of computational system for identification of “off-targets” for drug design, The Final Evaluation Conference of the Leading Program, University of Hyogo, 2018/3/12-2018/3/13, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan
 - 25) Ryoichi Utsumi, Jiyoung Kang, Jaehyun Kim, Ryu-ichiro Terada, and Masaru

- Tateno, Theoretical analysis of functional mechanism of [NiFe] hydrogenase by employing MD simulation, The Final Evaluation Conference of the Leading Program, University of Hyogo, 2018/3/12-2018/3/13, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan
- 26) Takuya Sumi, Hiroshi Yamaguchi, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Development of computational system for identification of “off-targets” for drug design, The Final Evaluation Conference of the Leading Program, University of Hyogo, 2018/3/12-2018/3/13, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan
- 27) Yu Huaxin, Takuya Sumi, Asuka Sugimoto, Jiyoung Kang, Masaru Tateno, Development of *ab initio* identification system of transcription factor binding motifs in genome DNA sequences coupled to mathematical artificial neural networks, The Final Evaluation Conference of the Leading Program, University of Hyogo, 2018/3/12-2018/3/13, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), Hyogo, Japan

大学院生命理学研究科

博士後期課程

Jaehyun Kim

Theoretical analysis of electronic structure of iron-sulfur clusters in hydrogenases

「ヒドロゲナーゼにおける鉄-硫黄クラスターの電子構造の理論解析」

博士前期課程

寺田 隆一郎

Theoretical analysis of biological functional mechanisms employing *ab initio* molecular dynamics calculations

「*ab initio* 分子動力学計算による生物機能メカニズムの理論解析」