

## 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 study of functional mechanisms based on molecular and electronic structures of biological macromolecular systems

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た。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た。

具体的には、翻訳制御・転写制御ネットワーク・シグナル伝達ネットワーク・代謝・生体エネルギー変換などをターゲットとして、それらにおけるタンパク質・タンパク質複合体、RNA・タンパク質複合体、DNA・タンパク質複合体などによる、生物機能メカニズムの解明を目指している。そのために、量子ハイブリッド分子動力学 (QM/MM MD) 計算技術や構造インフォマティクス解析技術など、様々な解析法を組み合わせ駆使して、それらの課題に臨む。

本年度は、タンパク質 GatCAB (アミド基転移酵素) 分子内部における、アンモニア分子の輸送メカニズムを理論的に解析した。その結果、アンモニア分子を輸送するための新しいチャネルを GatCAB 分子内部に見出し、その過程において同時に、チャネルの入口には「一方向性の弁」(Unidirectional Valve) が存在することを発見した。一方向性の物質の流れを生成するために、GatCAB はわずか 1 Å 程度の官能基の運動性を活用している。これはまさに、「ピコバイオロジーにおけるダイナミクスの役割」といえる発見である。

また同時にこれは、生体高分子における機械的なメカニズムによる単方向弁として、初めて見出されたものであり、「世界最小の単方向弁」の発見ともなった。さらに、このような一方向性の物質輸送を、生命がどのような原理によって実現しているのか、基本原理に基づく理解 (自由エネルギーの制御メカニズム) を得ることに成功した。これは今後、膜タンパク質などを始めとして、生命システムにおける物質輸

送の研究に、新たな視点を供するものと期待される。

シトクローム酸化酵素(CcO)においては、シトクローム c(Cyt c)より電子を受け取る部位である「Cu<sub>A</sub> サイト」の電子構造を理論的に解析し、その機能メカニズムの一部を明らかにした。Cu<sub>A</sub> サイトにおけるメチオニン(Met)残基の役割は、これまでに国際的にも精力的に成されてきた実験結果を比較すると、それらのデータには矛盾が見られた(Cu<sub>A</sub> サイトの他のアミノ酸残基とは、その点で異なる)。そこで本研究では、特に Met 残基の役割をハイブリッド QM/MM 計算などを駆使して、詳細に解析した。

そのためにまず、実験構造における Met 残基のコンフォメーションを理論的に検討し直し、より正確な立体構造を得るための解析を進めた。この結果を用いて、Cu<sub>A</sub> サイトの電子構造を詳細に解析したところ、従来見出されたことのない新しい電子構造が明らかになった。これらを元に、本解析結果と既知の実験結果とを組合わせて総合することにより、Cu<sub>A</sub> サイトの電子状態における基本構造 “Double Stratified Architecture” を明らかにした。さらに、Met 残基の変異によって、立体構造が影響を受けるメカニズムを解析し、従来の実験データに見られた矛盾の原因を明らかにした。

このように、生命機能を正確に理解するためには、ピコバイオロジーのスケールレベルにおける、極めて高精度な解析を適用することが不可欠である。そのために、上記のふたつの研究において用いられた理論解析技術は、非常に重要な役割を有している。今後さらに、適用領域を拡張すると共に、解析技術の高度化を推進する予定である。

また、本年度は異動初年度であると共に、震災被害からの復旧(異動直前)などがほぼ同時期に重なり、複合的な対応を必要とすることとなった。実際、大容量データストレージなどの破壊により、計算・解析を再度行う必要性などが発生した。その結果、投稿論文のリビジョンや解析中のデータ取得などにおいて、極めて大きな遅延が生じることとなった。しかし、研究の展開自体は、昨年度までの蓄積も功を奏し、概してこれまで同様の進展をもたらし得たと考えている(未発表内容を含む)。

今後は、転写制御ネットワークシステムなども、ピコバイオロジーの解析レベルにおいて調べるためには、インフォマティクス(情報理論・データベース技術等)の応用がますます重要である。そのために本年度は、転写因子の結合モチーフを正確に同定するための、新しい解析アルゴリズムの開発を行った。今後、計算精度を飛躍的に高めるための洗練化を行い、独自の理論を構成・完成させる予定にある。また同時に、新たに開発したそれらの解析技術を応用した、理論・実験の共同による、一層学際的な研究もスタートしたところである。したがってこれまで同様に、上述の基本方針を今後とも存分に発展・推進することが、新しい科学の創出に不可欠かつ肝要であると確信している。

## 発表論文 List of Publications

- 1 Nishimura, T. and Tateno, M.: Theoretical Exploration of Stability and Steepness of Algebraic Steady State Equations Describing Kinetics of Elementary Cellular Reaction Cycles: *J. Phys. Soc. Jpn*, **80** (2011), 044801.
- 2 Kang, J. Kino, H., and Tateno, M.: A theoretical investigation of the functional role of the axial methionine ligand of the Cu<sub>A</sub> site of bovine cytochrome c oxidase: *Biophys.*

- Biochem. Acta Bioenerg.*, **1807** (2011), 1314-1327.
- 3 Y. Hagiwara, J. Kang, and Tateno, M.: Structural Instability of the Active Site of T1 Lipase Induced by Replacement of Na<sup>+</sup> with Water Complexed with the Phenylalanine Aromatic Ring, *J. Chem. Theory Comp.*, **7** (2011), 2593-2599.
  - 4 Kang, J., Kuroyanagi, S., Akisada, A., Hagiwara, Y., and Tateno, M. Unidirectional mechanistic valved mechanisms for ammonia transport in GatCAB: *J. Chem. Theory Comp.*, **8** (2012), 649-60.
  - 5 Kang, J., Hagiwara, Y., and Tateno, M.: Biological applications of hybrid quantum mechanics/molecular mechanics calculation, *J. Biomed. Biotech.*, **2012** (2012), 236157. (Review Article)
  - 6 Kang, J. and Tateno, M.: Recent applications of hybrid ab initio quantum mechanics/molecular mechanics simulations to biological macromolecules, In *Quantum Mechanics/ Book 3*, Edited by Mohammad Reza Pahlavani (ISBN 979-953-307-753-5).
  - 7 萩原陽介・姜 志始・館野 賢: 生体反応の量子ハイブリッド分子動力学シミュレーション、「密度汎関数理論の発展とマテリアルデザインへの応用」(赤井・白井編)、スプリンガーおよび丸善、第3部・第8章.
  - 8 姜 志始・萩原陽介・館野 賢: コンピュータ・シミュレーションによる生体触媒反応機構の研究、応用物理 (日本応用物理学会編)、**80** (2011), 610-14. 2011/7.
  - 9 Jiyoung Kang and Masaru Tateno, A computational study of functional role of axial methionine ligand of Cu<sub>A</sub> site in cytochrome c oxidase, 第49回日本生物物理学会年会、兵庫.
  - 10 Masaru Tateno, Jiyoung Kang, and Moonyoung Yang, A computational study of the solvated structure of the complex of valyl-tRNA synthetase and the mis-aminoacylated tRNA<sup>Val</sup>, 第49回日本生物物理学会年会、兵庫.
  - 11 Masaru Tateno, Jiyoung Kang, and Ryo Nakaki, Theoretical and computational quantum structural biology for understanding functional mechanisms of biological macromolecular systems, 第49回日本生物物理学会年会、兵庫.
  - 12 Ryo Nakaki and Masaru Tateno, Improvement of a parameter-tuning-free identification system of transcriptional factor binding sites in genome DNA sequences, 第49回日本生物物理学会年会、兵庫.
  - 13 板垣哲彦・Jiyoung Kang・館野 賢、Molecular dynamics simulation of complex of valyl-tRNA synthetase and its cognate tRNA, 第84回日本生化学会大会、京都.
  - 14 秋定航宏・Jiyoung Kang・館野 賢、Analysis of fully-hydrated structures of human adult hemoglobin exploiting molecular dynamics simulations, 第84回日本生化学会大会、京都.
  - 15 Jiyoung Kang・館野 賢、シトクロム酸化酵素の Cu<sub>A</sub> サイトにおける Cu 配位 Met 残基の機能的役割、第84回日本生化学会大会、京都.

- 16 忝岡 亨・Jiyoung Kang・舘野 賢、シトクロム酸化酵素の heme  $a_3$  及び  $\text{Cu}_B$  サイトにおける電子構造の解析、第 84 回日本生化学会大会、京都.
- 17 中村淳志・Jiyoung Kang・舘野 賢、P450cam における閉じた気質結合部位からの水の排出メカニズム、第 84 回日本生化学会大会、京都.
- 18 Ryo Nakaki and Masaru Tateno, Improvement of an automatic identification algorithm of transcription factor binding sites in genome DNA sequences coupled to ChIP-data, 第 84 回日本生化学会大会、京都.
- 19 舘野 賢・Jiyoung Kang・萩原陽介・Martin J. Field, Dynamical rearrangements of electronic structure in editing reaction of  $\text{LeuRS}\cdot\text{valyl-tRNA}^{\text{Leu}}$  complex, 第 34 回日本分子生物学会年会、横浜（口頭発表）.
- 20 Jiyoung Kang・舘野 賢, Computational investigation of functional role of axial methionine ligand of  $\text{Cu}_A$  site in cytochrome c oxidases, 第 34 回日本分子生物学会年会、横浜（口頭発表）.
- 21 Ryo Nakaki and Masaru Tateno, An integrated automatic system for signal processing of genome-wide ChIP-data and identification of transcriptional binding motifs, 第 34 回日本分子生物学会年会、横浜（口頭発表）.
- 22 舘野 賢・Jiyoung Kang・萩原陽介・Martin J. Field, Dynamical rearrangements of electronic structure in editing reaction of  $\text{LeuRS}\cdot\text{valyl-tRNA}^{\text{Leu}}$  complex, 第 34 回日本分子生物学会年会、横浜（ポスター発表）.
- 23 Jiyoung Kang・舘野 賢, Computational investigation of functional role of axial methionine ligand of  $\text{Cu}_A$  site in cytochrome c oxidases, 第 34 回日本分子生物学会年会、横浜（ポスター発表）.
- 24 Ryo Nakaki and Masaru Tateno, An integrated automatic system for signal processing of genome-wide ChIP-data and identification of transcriptional binding motifs, 第 34 回日本分子生物学会年会、横浜（ポスター発表）.

## 科学研究費補助金等

- 1 文部科学省科学研究費補助金（平成 22～24 年度） 基盤研究（B）  
 研究課題 生体反応の量子ハイブリッド分子動力学シミュレーション  
 研究代表者 舘野 賢
- 2 文部科学省科学研究費補助金（平成 24 年度） 挑戦的萌芽研究  
 研究課題 生体超分子の立体構造および電子構造の統合的決定技術の開発  
 研究代表者 舘野 賢