

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
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、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過程を含め、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たいと考えている。

I. 人工知能・解析技術を用いたゲノム DNA 反応場の分子認識システムの解明

本年度はまず、DNA トポイソメラーゼ II β (topoII β) のゲノムワイドな結合サイトの完全な決定を目指した、情報学的解析技術の開発を推進した。topoII β は、スーパーコイル構造を有する DNA に選択的に結合し、その 2 重鎖を切断する触媒反応により、DNA のスーパーコイル構造を緩和するタンパク質酵素である。これにより、核内クロマチン構造を変化させ、遺伝子の転写制御を担う。特に近年では、神経関連遺伝子の転写制御に重要な役割を果たしていることが明らかとなり、脳における学習・記憶にも密接に関連することが解明されてきた。

topoII β が結合するゲノム内のモチーフは、塩基配列の特徴が弱く、しかもそれら複数のモチーフが関与する点に大きな困難がある。そのため従来より、これらのモチーフを完全に決定することができない。そこで本研究では、我々は先行研究において独自に開発したモチーフ同定システム MODIC2 (*Nucleic Acids Res.*, **40** (2012), 8835 を参照)を用いると共に、さらに数学的なニューラルネットワークによる機械学習アルゴリズムを新たに導入し、情報学的な評価法を合わせて構築し組合せることによって、特徴の弱いモチーフを正確に同定するための新規の理論を構築した。これを **DIMON** (**D**iverse **M**otif Identification through the **N**eural Network Analysis) と名付けた[論文 4]。

同時に、この理論を情報幾何学的な多様体上でも展開することにより、認識・識別における一般的かつ実践的な枠組みを微分幾何学的に与えることにも成功した。これは、理論上も応用上も今後の飛躍的な発展を導く、重要な成果であると考えられる、このようにして本年度は、これまで成功した例の無い困難なモチーフ発見の課題に対しても、**生物学的な知見を用いないシステム (MODIC2) (Knowledge-free System)** と、**データ駆動型・人口知能システム (DIMON)** とを初めて組合せることにより、全体として、関連する既知の知見を必要としない、さらに高次の新たな解析技術を開発することに成功した。これは、前述の課題を解決するための堅固な基盤となり得るものである。

II. 生体触媒反応における電子構造ダイナミクスの解明

さらに本年度は、アミノアシル tRNA 合成酵素 (aaRS) による触媒反応メカニズムにおける電子ダイナミクスの詳細を解明した。aaRS は、tRNA とそれに特異的なアミノ酸を結合させる酵

素である。すなわち、20種類のアミノ酸(aa)と40~50種類のtRNA(生物種に依る)との特異的な結合は、それぞれのaaに特異的なaaRS(20種類)によって決定されている。もし誤ったaa-tRNA^{aa}結合を生成すると、翻訳(タンパク質の生合成)の過程で、すべてのタンパク質のアミノ酸配列に変異が生じ得るため、細胞自身にとって甚大な打撃となる。

したがってaaRSは、生命の根源的な機能を担う、極めて重要な酵素である。ところがaaRSの中には、誤って非特異的なaaをtRNAに結合させる酵素もある。しかしその場合にもaa-tRNA結合を加水分解して切断する反応を自ら有する酵素があり、これをエディティング反応とよぶ。本研究では、クラスI aaRSによるエディティング反応の解析を推進した。

我々の先行研究において、ハイブリッド *ab initio* QM/MM MD 計算により、ロイシルtRNA合成酵素(LeuRS)によるエディティング反応を解析した(*J. Am. Chem. Soc.*, **132** (2010), 2751などを参照)。その結果、LeuRS・tRNA^{Leu}複合体においてtRNA^{Leu}に誤ったアミノ酸が転移された場合(aa-tRNA^{Leu})、tRNA^{Leu}のアデノシン76(A76)残基がリボザイムとして機能すると共に、同時にタンパク質(LeuRS)と共同して加水分解(エディティング反応)を行う、新しい触媒反応メカニズム(ハイブリッド触媒)を見出した。

本研究では、このaa-tRNA^{Leu}・LeuRS複合体によるエディティング反応の電子ダイナミクスを詳細に解析し、さらに「生体高分子に特徴的なメカニズム」を見出すことに成功した。すなわち、触媒反応を直接担う電子軌道が、反応前にはフロンティア軌道としては存在せず、反応の進行に伴うダイナミックな電子構造変化によって初めて、HOMO および LUMO へと遷移するのである。このようなメカニズムを **Dynamical Induction of the Reactive HOMO and LUMO (DIRH and DURL)** と名付けた [論文 2]。

そこで他の生体反応についても、同様な解析により電子ダイナミクスを調べた結果、さらに複数の系で前述の DIRH および DURL メカニズムを見出した(投稿中および投稿準備中)。これは、生体高分子における触媒反応が、本質的に動的な過程であることを示している。本研究ではさらに、バリン tRNA 合成酵素(ValRS)によるエディティング反応を、構造モデリング技術およびハイブリッド *ab initio* QM/MM 計算により解析している。

III. 拡張サンプリング法を用いた多変量データ解析技術の開発と応用

近年、マイクロアレイなどの大規模な多変量データを、高精度に解析することが可能な数学理論およびアルゴリズムが、非常に重要な役割を果たしている。そこで本年度はさらに、分光実験などから得られるスペクトル・データや、ゲノム科学実験などにおけるイメージデータなど、様々な多変量データについて、従来法では解析不能な場合であっても、高精度に処理可能な情報学的アルゴリズムを開発した [論文 1]。

その結果、従来は実験結果と理論解析とを直接比較できなかった系でも、上述のアルゴ

リズムとそれを実装した計算プログラムにより、例えば構造モデリングによって得られた立体構造と、実験データとの比較解析を直接、精密に行うことが可能となった。そのため上記アルゴリズムを、本研究における実在系に実際に応用した。

例えば、スーパーコイル DNA に選択的に結合するペプチド(Lys)₉(Glu)₉(Lys)₉とスーパーコイル DNA との認識メカニズムの解析に応用した。すなわち、スーパーコイル DNA に、同ペプチドを、様々な濃度で加えることにより、CD スペクトルの変化を追跡し、DNA の立体構造変化を解析した。得られたスペクトルは、ペプチドによって誘導された、複数の異なる DNA コンフォメーションに由来するものである。よって、得られたスペクトルを、ペプチドの異なる濃度ごとに、複数の「要素スペクトル」と、それぞれの要素スペクトルがどの程度の割合で含まれるのか、すなわち「要素スペクトルの含有割合」とに分解することが、DNA コンフォメーションを解読するために不可欠である。

この問題は一般に、MCR-ALS と呼ばれる理論的解法によって解くことができる。同手法には既に、統合的な解析システムが整備されており、様々な多変量データを解析するための優れた手法となっている。そこで、上述の系にも MCR-ALS 法を適用した。ところがこの場合は、解は得られたものの、数学的にも生物学的にも Trivial な解しか得られなかった。その原因は、解の探索スペースが不十分である可能性が示唆された。そこで本研究では、シミュレイトイド・アニーリング(SA)による拡張サンプリング法を MCR-ALS に初めて導入することにより、新たに SA・MCR-ALS 法を開発し、これを適用した。

その結果、スーパーコイル DNA と (Lys)₉(Glu)₉(Lys)₉ ペプチドの結合における、選択性や共同性などのメカニズムを、原子解像度で解析することが可能となった。これは、生命に特有な特質を、複数同時に発現し得るメカニズムにアプローチするための解析であり、実験と理論解析とのフィードバックにより、初めて原子解像度における精密な理解が可能となった(論文 1 および投稿準備中)。

またこの新たな解析技術は、様々な分光学におけるスペクトル・データの解析のみならず、DNA マクロアレイなどのバイオインフォマティクスにおける諸問題、またそれらを含むビッグデータの解析などにおいても、直接に応用可能であり、非常に重要な寄与をなし得るものである。今後、多変量データ解析のスタンダードな計算法の一つになることが期待される。こうした広範な領域へ向けた応用の期待により、以上の成果は、次掲のサイトにおける Editor's Picks においても既に取り上げられ、紹介された:

<http://biomedical-advances.org/editors-picks/>

<http://biomedical-advances.org/ep-20179-5/>

本年度はこのように、高次の細胞機能メカニズムの理解を含めて、その電子ダイナミクスから出発し、ゲノム DNA の巨大な反応場を解析することにより、そこに内在するシステム原理を解明するための基盤を構築した。これにより、量子情報システム生命科学というべき、生命物理学における新しい研究領域が切り拓かれつつある。

発表論文 List of Publications

原著論文

- 1) Jiyoung Kang, Kazuhiko Yamasaki, Kuniaki Sano, Ken Tsutsui, Kimiko M. Tsutsui, and Masaru Tateno, Simulated Annealing-Extended Sampling for Multicomponent Decomposition of Spectral Data of DNA Complexed with Peptide, *J. Phys. Soc. Jpn.*, **86** (2017), 014802.
- 2) Jiyoung Kang, Hiori Kino, Martin J. Field, and Masaru Tateno, Electronic Structure Rearrangements in Hybrid Ribozyme/Protein Catalysis, *J. Phys. Soc. Jpn.*, **86** (2017), 044801.
- 3) Jiyoung Kang and Masaru Tateno, Effects of a positive feedback loop upon the stability of bi-connected elementary biochemical reaction cycles. *J. Phys. Soc. Jpn.*, **86** (2017), 074802.
- 4) Asuka Sugimoto, Jiyoung Kang, Takuya Sumi, and Masaru Tateno, Novel strategy for discrimination of transcription factor binding motifs employing mathematical neural network, *J. Phys. Soc. Jpn.*, **86** (2017), 074803.
- 5) Jiyoung Kang, Chongwon Pae, Hae-Jeong Park, Energy landscape analysis of the subcortical brain network unravels system properties beneath resting state dynamics, *Neuroimage*, **149** (2017), 153-164.
- 6) Satoru Shimada, Kyoko Shinzawa - Itoh, Junpei Baba, Shimpei Aoe, Atsuhiro Shimada, Eiki Yamashita, Jiyoung Kang, Masaru Tateno, Shinya Yoshikawa and Tomitake Tsukihara, Complex structure of cytochrome c-cytochrome c oxidase reveals a novel protein-protein interaction mode, *EMBO Journal*, **86** (2017), 291-300.

国際会議

- 1) (Plenary Talk) Masaru Tateno, Functional Mechanisms of Biological Macromolecular Systems Revealed by Hybrid *ab initio* Quantum Mechanics Molecular Dynamics, 7th Annual Global Congress of Catalysis-2016, KINTEX, Goyang, Korea, 2016年6月30日~7月2日

- 2) (Invited Talk) Jiyoung Kang, Ryuichiro Terada, and Masaru Tateno, Theoretical Analysis of Dynamical Mechanisms of Ligand-recognition by Cytochrome c Oxidase Employing Hybrid *ab initio* Quantum Mechanics/Molecular Mechanics Molecular Dynamics Simulation, 7th Annual Global Congress of Catalysis-2016, KINTEX, Goyang, Korea, 2016年6月30日~7月2日
- 3) Jaehyun Kim, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Investigation of Oxygen Tolerance Mechanism of Membrane-bound Hydrogenase with use of *ab initio* Electronic Structure Calculation, 7th Annual Global Congress of Catalysis-2016, KINTEX, Goyang, Korea, 2016年6月30日~7月2日
- 4) Hiroshi Nishigami, Jiyoung Kang, Kakeru Sakabe, Kuniaki Sano, Kimiko M. Tsutsui, Ken Tsutsui, Kazuhiko Yamasaki, and Masaru Tateno, Structural and thermodynamic mechanisms of selectivity and cooperativity in recognition of supercoiled DNA-recognition (SDR) peptide and crossover DNA. 2016 Leading Program Evaluation Conference, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), 2016年3月13日~3月14日
- 5) Takuya Sumi, Jiyoung Kang, Ryuichiro Terada, Hiroshi Yamaguchi, and Masaru Tateno, Applicability augmented by extending of sampling space in molecular docking simulation for drug design, 2016 Leading Program Evaluation Conference, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), 2017年3月13日~3月14日
- 6) Asuka Sugimoto, Jiyoung Kang, Kakeru Sakabe, Takuya Sumi, and Masaru Tateno, Genome-wide identification of broad-range diverse sequence motifs of topoisomerase II β operating sites, 2016 Leading Program Evaluation Conference, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), 2017年3月13日~3月14日
- 7) Ryuichiro Terada, Jiyoung Kang, Kakeru Sakabe, and Masaru Tateno, Theoretical analysis of dynamical mechanisms of ligand recognition by cytochrome c oxidase, 2016 Leading Program Evaluation Conference, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), 2017年3月13日~3月14日
- 8) Kakeru Sakabe, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Theoretical study of editing reaction mechanism by the complex of valyl-tRNA synthetase and the mis-aminoacylated tRNA^{Val}, 2016 Leading Program Evaluation Conference, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), 2017年3月13日~3月14日
- 9) Jaehyun Kim, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Electronic structure analysis of O₂-tolerance mechanisms of hydrogenase by hybrid *ab initio* quantum mechanics/molecular

mechanics simulation, 2016 Leading Program Evaluation Conference, Center for Advanced Science and Technology Hyogo (CAST), 2017 年 3 月 13 日~3 月 14 日

国内会議

10) Ryuichiro Terada, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Hybrid *ab initio* quantum mechanics analysis of O₂-binding to the CuB-Fea3 binuclear center of cytochrome c oxidase, The 16th Annual Meeting of the Protein Science Society of Japan, Fukuoka International Congress Center, 2016 年 7 月 7 日~7 月 9 日

11) Jaehyun Kim, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, *ab initio* electronic structure calculation of proximal cluster in membrane bound hydrogenases (MBH), The 16th Annual Meeting of the Protein Science Society of Japan, Fukuoka International Congress Center, 2016 年 7 月 7 日~7 月 9 日

12) Atsushi Nakamura, Jiyoung Kang, Yasufumi Umena, Keisuke Kawakami, Jian-Ren Shen, Nobuo Kamiya, and Masaru Tateno, Proton transfer mechanisms in photosystem II : hybrid *ab initio* quantum mechanics study, The 16th Annual Meeting of the Protein Science Society of Japan, Fukuoka International Congress Center, 2016 年 7 月 7 日~7 月 9 日

13) Ryuichiro Terada, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Hybrid *ab initio* molecular dynamical simulation of cytochrome c oxidase: Mechanisms of structural changes by dynamical ligand recognition, The 54th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Tsukuba International Congress Center, 2016 年 11 月 25 日~11 月 27 日

14) Jaehyun Kim, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Hydrogenase : *ab initio* quantum mechanics study of oxygen-tolerance mechanism, The 54th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Tsukuba International Congress Center, 2016 年 11 月 25 日~11 月 27 日

15) Takuya Sumi, Hiroshi Yamaguchi, Ryuichiro Terada, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Identification of optimal parameter values in ligand-receptor docking calculation to extend applicability, The 54th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Tsukuba International Congress Center, 2016 年 11 月 25 日~11 月 27 日

16) Kakeru Sakabe, Hiroshi Nisihigami, Jiyoung Kang, Masaru Tateno, Identification of initial ES complex of topoisomerase II β and target DNA employing molecular dynamics docking simulation, The 54th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Tsukuba International Congress Center, 2016 年 11 月 25 日~11 月 27 日

17) Hiroshi Nishigami, Kakeru Sakabe, Jiyoung Kang, Kuniaki Sano, Kimiko Tsutsui, Ken Tsutsui, Kazuhiko Yamasaki, and Masaru Tateno, Molecular dynamics docking study on selective binding mechanisms of supercoiled-DNA recognition (SDR) peptide and spatially-crossover DNA, The 54th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Tsukuba International Congress Center, 2016年11月25日~11月27日

18) Ryuichiro Terada, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Dynamical mechanisms of structural transitions acting as functional switch induced by the ligand binding in cytochrome c oxidase, The 39th Annual Meeting of The Molecular Biology Society of Japan, Pacifico Yokohama, 2016年11月30日~12月2日

19) Kakeru Sakabe, Hiroshi Nishigami, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Structural modeling of initial ES complex of topoisomerase IIB and target DNA employing molecular dynamics simulation, The 39th Annual Meeting of The Molecular Biology Society of Japan, Pacifico Yokohama, 2016年11月30日~12月2日

20) Takuya Sumi, Hiroshi Yamaguchi, Ryuichiro Terada, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Extended applicability of molecular docking simulation for ligand design by optimizing configurational and conformational sampling spaces, The 39th Annual Meeting of The Molecular Biology Society of Japan, Pacifico Yokohama, 2016年11月30日~12月2日

21) Hiroshi Nishigami, Kakeru Sakabe, Jiyoung Kang, Kuniaki Sano, Kimiko Tsutsui, Ken Tsutsui, Kazuhiko Yamasaki, and Masaru Tateno, Molecular dynamics docking simulation to elucidate selective binding mechanisms of supercoiled-DNA recognition (SDR) peptide and spatially-crossover DNA, The 39th Annual Meeting of The Molecular Biology Society of Japan, Pacifico Yokohama, 2016年11月30日~12月2日

22) Kakeru Sakabe, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Development and Application of Algorithms to Identify Functionally-Clustered Genes in Eukaryotic Genomes, 5th Informatics in Biology Medicine and Pharmacology, 東京国際交流館プラザ平成 (東京お台場), 2016年9月29日~10月1日

23) Takuya Sumi, Hiroshi Yamaguchi, Ryuichiro Terada, Jiyoung Kang, and Masaru Tateno, Broad-range applicability of molecular docking calculation of ligand and receptor by optimizing configurational and conformational sampling spaces, 5th Informatics in Biology Medicine and Pharmacology, 東京国際交流館プラザ平成 (東京お台場), 2016年9月29日~10月1日

科学研究費補助金等

科学研究費補助金（平成 25～28 年度）基盤研究(B)

研究課題 量子・情報科学理論の融合による生体反応場の統合的解析

研究代表者 舘野 賢