



筑波大学 筑波大学・計算科学研究センター 筑波大学・TARA センター 東京大学 構造生物学センター  
(フランス・グルノーブル)

平成 22 年 2 月 10 日  
筑 波 大 学

## 「第 3 の酵素」を発見！ —RNA とタンパク質による「ハイブリッド触媒」—

### 研究成果とその意義のまとめ

- 1) タンパク質酵素, RNA 酵素に加え, 第3の酵素「**ハイブリッド酵素**」を発見
- 2) 「**生命の起源**」において, 「RNA ワールド」から「現在の生物」を結ぶ役割も
- 3) 最先端の「**コンピュータ・シミュレーション**」が創る新しい生命科学

### 概要

筑波大学・計算科学研究センター（佐藤三久センター長）・物質生命研究部門・生命科学分野の舘野賢准教授らの研究グループは、フランス（グルノーブル）構造生物学研究センターおよび東京大学の研究チームと共同で、「RNA」と「タンパク質」が「密接な共同作業」によって行う「新しい生体反応」のしくみを、筑波大学の超並列コンピュータ PACS-CS/T2Kなどを駆使して解明しました。

本研究の結果、酵素には、タンパク質、RNA（リボザイム）だけではなく、第3の新しいタイプの酵素が存在することを発見しました。研究チームはこれを「リボザイム/タンパク質・**ハイブリッド触媒**」と名付け、新しいリボザイム反応であるのみならず、酵素自体の新た

なカテゴリであることを明らかにしました。以下ではこれを「**ハイブリッド酵素**」と呼びます。

これにより生物は、3種類の酵素をもつことがわかりました：

- 1) タンパク質酵素
- 2) RNA 酵素 (リボザイム)
- 3) **ハイブリッド酵素**      ← **本研究による発見**

この度の「ハイブリッド酵素」の発見は、医学・薬学などへの応用のみならず、さらには「生命の進化」とも深い関係を有し、「新しい概念の創出」を意味するものです。今後こうした「生命の起源」を解明する目的でも、本研究における発見は大きな寄与をもたらすものと強く期待されています。

以上の研究成果は、2月5日（金）付けアメリカ化学会誌「ジャーナル・オブ・アメリカン・ケミカル・ソサイエティ」のオンライン版に掲載されました。

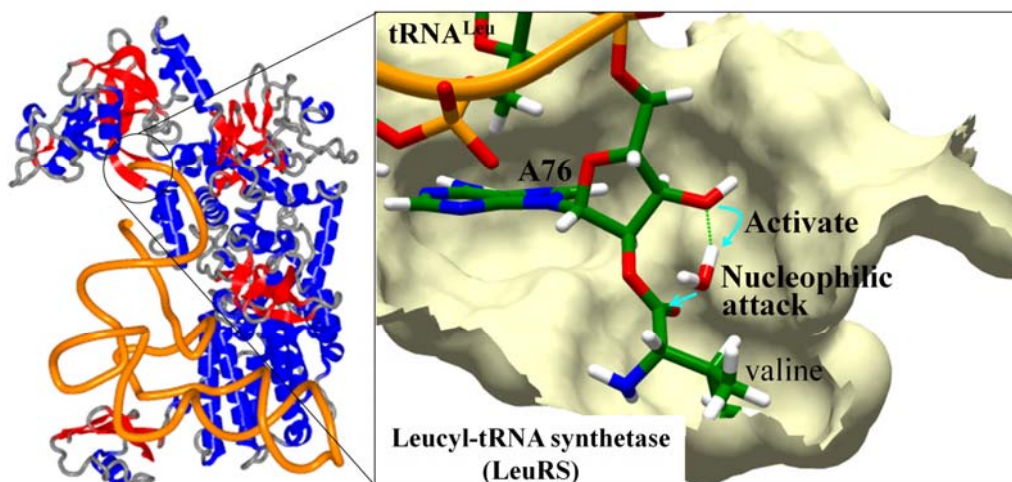


図1

左図は、この度の研究で明らかになった「ハイブリッド触媒」機能を有する分子の全体像です。RNA（橙色のチューブ）およびタンパク質（青・赤・灰色のリボン）を表示しています。

右図は、酵素反応が生じる部分を拡大したもので、水色の矢印に従って、原子どうしの新たな「結合」および結合の「切断」の生じることが、本研究により明らかになりました。このようにして、「ハイブリッド酵素」の反応のしくみが、本研究により詳細に解明されました。

## ＜研究の背景＞

本研究では、ロイシル tRNA 合成酵素 (LeuRS) と呼ばれる酵素について、その酵素反応のしくみを、コンピュータ・シミュレーションによって調べました。ロイシル tRNA 合成酵素 (LeuRS) は、アミノアシル tRNA 合成酵素とよばれる一連の酵素群のひとつであり、本年度のノーベル化学賞を受賞した研究とも密接な関係を持っています。以下ではそうした視点から、研究の背景を簡潔に記載します。

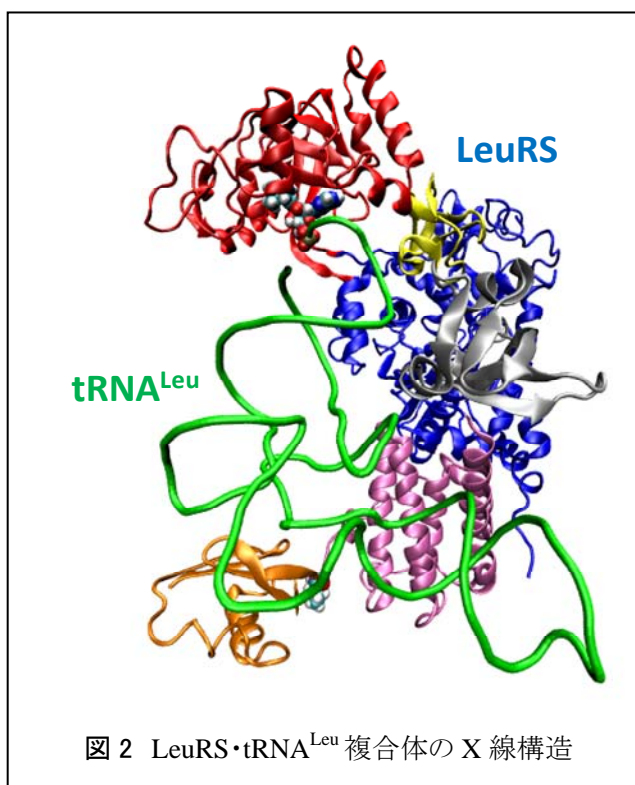
ロイシル tRNA 合成酵素 (LeuRS) の立体構造を図 1 および図 2 に示します (リボンの部分: 赤・青・黄色・灰色)。これは、トランスファーRNA (tRNA) と呼ばれる RNA 分子 (チューブの部分: 緑色) と結合すると共に、さらにロイシンと呼ばれるアミノ酸や ATP と呼ばれる小さな分子とも結合します。これら 4 種類の生体分子が結合すると、ロイシル tRNA 合成酵素 (LeuRS) は、アミノ酸を tRNA に結合させる酵素反応を行います。この反応はアミノアシルーションと呼ばれます。

ところが生体内には、ロイシンに似たアミノ酸が他にも存在し、ロイシル tRNA 合成酵素 (LeuRS) は、それらの似通った別

のアミノ酸を tRNA に間違えて結合させてしまうことがあります。実はこの誤りは、生物にとって致命的です (後述)。そのためロイシル tRNA 合成酵素 (LeuRS) は、誤って結合させたアミノ酸と tRNA とを再度、切断する酵素反応も行うことができるようになっています。これをエディティング反応と呼びます。

すなわちロイシル tRNA 合成酵素 (LeuRS) は、アミノアシルーションによって、tRNA にロイシン (アミノ酸) を結合させるだけではなく、その際に誤って別のアミノ酸を結合させてしまった場合には、それを訂正する (=エディティング; editing) こともできるようになっている、大変興味深い酵素であるというわけです。

実はタンパク質は、20 種類のアミノ酸が結合してできた分子です。ロイシル tRNA 合



成酵素 (LeuRS) は、その 20 種類のうちロイシン (のみ) を担当し、「ロイシン」(アミノ酸) 分子を「ロイシン用の tRNA」に結合させるはたらきをもつわけですが (この tRNA を  $tRNA^{Leu}$  と記します)。では、tRNA はどのようなはたらきをもっているのでしょうか? 例えばロイシン (記号で Leu と記します) が  $tRNA^{Leu}$  に結合し (これを  $Leu-tRNA^{Leu}$  と記します)、その結果生じた  $Leu-tRNA^{Leu}$  は、生物にとって、どのような役割を果たすのでしょうか? 実は、これらは極めて重要なはたらきをもっています。それを理解するためには、本年度のノーベル賞を受賞した研究を思い出す必要があります。

本年度のノーベル化学賞は、「リボソームの立体構造の決定」に対して与えられました。リボソームとは、我々の細胞内で、「タンパク質を合成する工場」のことです。タンパク質は 20 種類のアミノ酸からできており、それらの並び方は、そのタンパク質をコード (暗号化) する遺伝子に書かれています。遺伝子の実体は DNA ですが、遺伝子のはたらき始めるときには、その情報は一旦、メッセンジャー RNA (mRNA) にコピーされます。

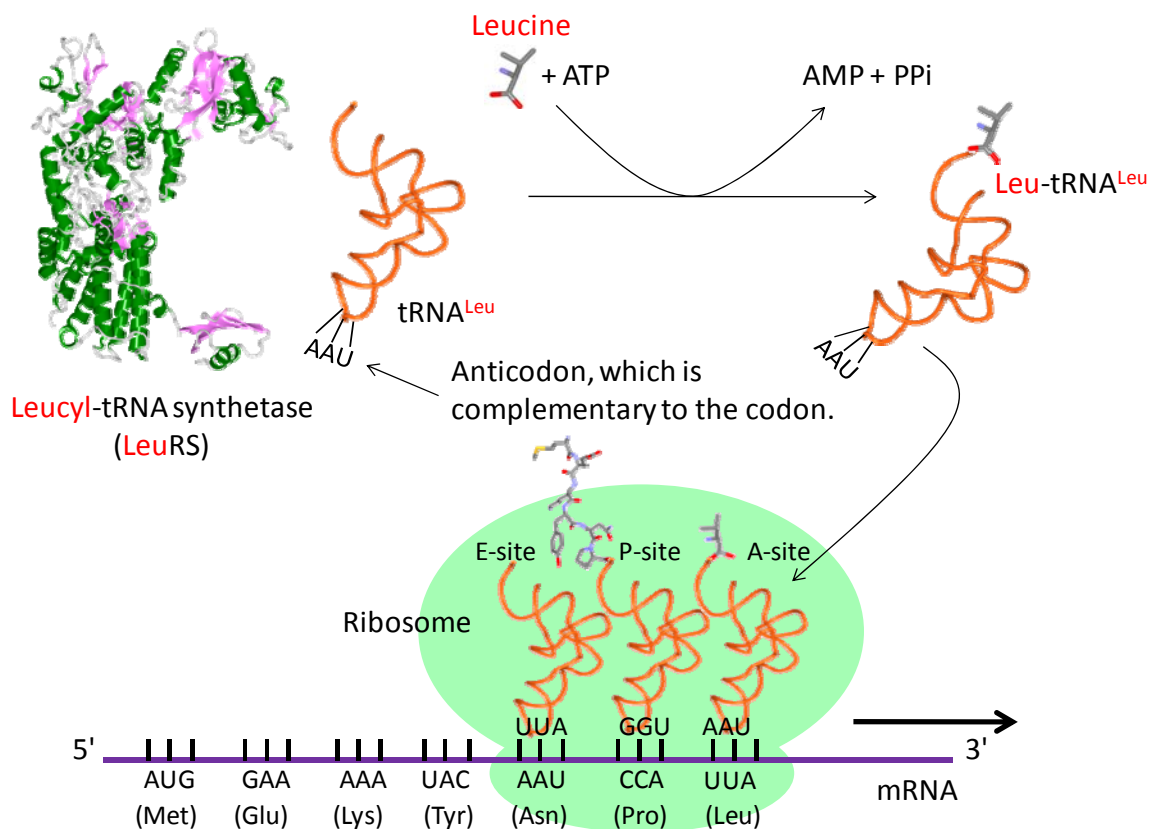


図3 細胞内におけるタンパク質の生成のしくみ

その後、(遺伝子 DNA ではなく) mRNA がリボソームと結合することによって、遺伝子の情報を「タンパク質合成工場」に伝えます。DNA の遺伝情報は、このようにしてリボソームに伝搬されますが、ではアミノ酸は、どのようにしてリボソームにやって来るのでしょうか？ アミノ酸をリボソームに運ぶのが、先ほどの tRNA です。tRNA は、20 種類のアミノ酸のうちどのアミノ酸を運ぶか、極めて厳密に決まっています。例えば、ロイシン (Leu) を運ぶ tRNA は tRNA<sup>Leu</sup> であり、Leu-tRNA<sup>Leu</sup> がロイシル tRNA 合成酵素 (LeuRS) によって生成され、その結果、ロイシン (Leu) がリボソームに運ばれます。

もしも仮に、他のアミノ酸、例えばバリン (Val) が tRNA<sup>Leu</sup> に結合すると、Val-tRNA<sup>Leu</sup> が生成され、これがそのままリボソームに運ばれて使われてしまいます。そうすると、すべてのタンパク質において、そのアミノ酸の並びが、本来はロイシン (Leu) の場所であるはずなのに、別のアミノ酸 (Val) が入ってしまうことになります。

これはすなわち、遺伝子 DNA 上の遺伝情報が、タンパク質の正しいアミノ酸の並び方へと変換されなくなってしまうことを意味しています。そうすると、誤ったアミノ酸の並び方をもったタンパク質が、細胞内でどんどん作られてしまいます。これでは、タンパク質の本来のはたらきを行うことができません。したがってその結果として、細胞のはたらき全体が停止してしまいます。これは、細胞の死を意味します。

このように、リボソームにおいて正しい (アミノ酸の並びをもった) タンパク質が作り出されるためには、その前の段階が極めて重要です。すなわち、tRNA とアミノ酸との結合を正しく行うことです。そのためには、20 種類のアミノアシル tRNA 合成酵素が、それぞれのアミノ酸に対応した tRNA に、正しいアミノ酸を結合させる必要があります。ロイシル tRNA 合成酵素 (LeuRS) も、そのひとつです。

以上についてのさらに詳細な内容は、資料[1]を参照下さい。

## <研究の内容>

### 1) エディティング反応のしくみの説明: 矛盾する実験結果

以上のように、「ロイシル tRNA 合成酵素」(LeuRS) は、「アミノアシル tRNA 合成酵素」(aaRS) ファミリの一員です。これらは上記のように、遺伝子 DNA (ゲノム DNA) がコードする遺伝情報を、タンパク質のアミノ酸配列へ変換するために、不可欠の役割を果たしています (図 2)。アミノアシル tRNA 合成酵素 (aaRS) が、トランスファーRNA (tRNA) にアミノ酸

を結合させ、それによってアミノ酸がリボソーム（タンパク質合成のための生体内の工場）へ運搬されます。これにより、すべてのタンパク質が生成されます。タンパク質を構成する20種類の基本的なアミノ酸それぞれに対応して、生物は（基本的に）20種類のアミノアシル tRNA 合成酵素（aaRS）を持っています（生物の種類によっては、より複雑な仕組みをもつものもあります）。

LeuRS の場合には、ロイシン（Leu）と呼ばれるアミノ酸を、ロイシン専用の tRNA（これを  $\text{tRNA}^{\text{Leu}}$  と記します）に結合させます。ここで LeuRS が、もしも誤ったアミノ酸を  $\text{tRNA}^{\text{Leu}}$  に結合させた場合には、LeuRS 自身がその誤りを訂正するはたらきも持っています。すなわち、一旦  $\text{tRNA}^{\text{Leu}}$  に結合した（誤った）アミノ酸を自ら切断し、再度、正しいアミノ酸を結合させます。この誤りを訂正する反応をエディティング（編集）反応と呼び、遺伝情報を正確にタンパク質（アミノ酸の並び方）へと変換するために大変重要です（LeuRS の他にもエディティング反応を行う aaRS があります）。

そのためすべての生命が、このエディティング反応を有しています。生命がどのようにして遺伝情報を正確に発現するのか、その仕組みを根本的に理解するために、この反応の仕組みを解明することは非常に重要です。そのためこれまでも、非常に多くの研究がなされてきました。しかしその反応のしくみについては、いまだ謎が多く、これまでの研究においても互いに矛盾した実験結果さえ発表されていました。このように、国際的に精力的な研究がなされているにも関わらず、エディティング反応のしくみについては、矛盾した研究結果を説明することができない状況にありました。

そこで本研究では、エディティング反応のしくみを詳細に解明して、実験上の矛盾をも解決することを目指し、研究が行われました。

## 2) コンピュータ・シミュレーションによる酵素反応機構の解明

そのために本研究では、コンピュータ・シミュレーションを用いて、ロイシル tRNA 合成酵素（LeuRS）による酵素反応のしくみを調べました。計算には、筑波大学の舘野准教授らの研究グループが開発した「QM/MM ハイブリッド計算・インターフェースシステム」が用いられました。

タンパク質などの生体分子の場合、そのサイズが巨大であることが多く、大規模な計算が必要となります。そこで、生体分子をふたつの領域に分けて計算する方法（図4）が、



現在、大変注目されています。この計算法では、計算対象を以下のふたつの領域に分割して計算します：

- 1) 電子を含めて化学反応を取り扱う量子力学 (QM) 計算 (非常に大きな計算)
- 2) 化学反応に直接には関係しない領域に適用する古典力学 (MM) 計算 (小さい計算)

これにより、大きな生体分子も極めて効率よく、しかも高精度に計算できます。これを「QM/MM

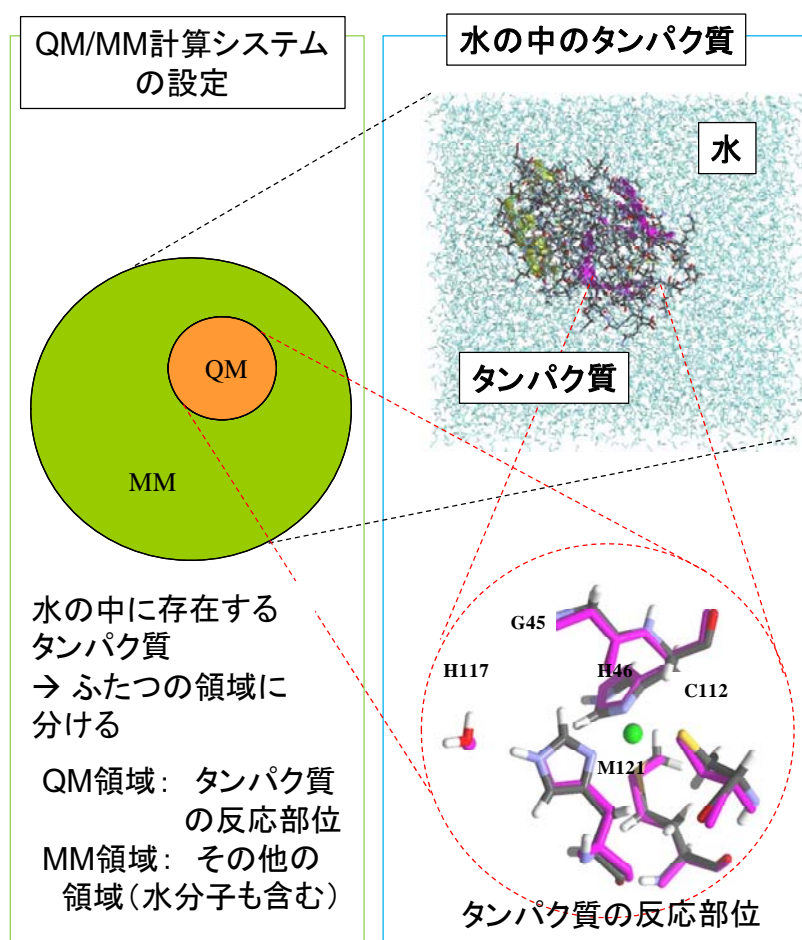


図4 タンパク質と多くの水分子からなる対象を、ふたつの部分に分割して計算を行います。ひとつは、QM 領域でこれは多くの計算量を必要とするため、小さな領域に限定して適用します。その他の部分は MM 領域として、比較的計算量が少ないため、広い領域をカバーさせることができます。

ハイブリッド計算」と呼びます。効率の良い理由は、2)のMM計算が、比較的計算量が小さいために、より広い領域をカバーできるからです。そのために、全体を1)のQM計算（計算量が大きい！）でカバーするよりも、QM計算の必要がない領域については、2)のMM計算（計算量が少ない！）を適用することで、著しい計算の効率化をはかることができます。

舘野賢准教授らの研究グループは、従来よりも高精度で、かつさらに効率よく計算することの可能なQM/MMハイブリッド・インタフェースプログラムを開発しました。これを筑波大学の超並列大型コンピュータPACS-CSやT2Kシステムなどで稼働させることにより、新しいQM/MMハイブリッド計算システムを構築しました（資料[2]）。

このシステムを用いた計算は、昨年度、金属（銅イオン）と結合したタンパク質などの機能のしくみを調べるために既に行われています。その結果、従来は正確な立体構造さえ得ることのできなかつた生体分子についても、非常に高い精度の計算結果が得られることを実証しました。これらの研究成果の詳細については、資料[2]を参照下さい。

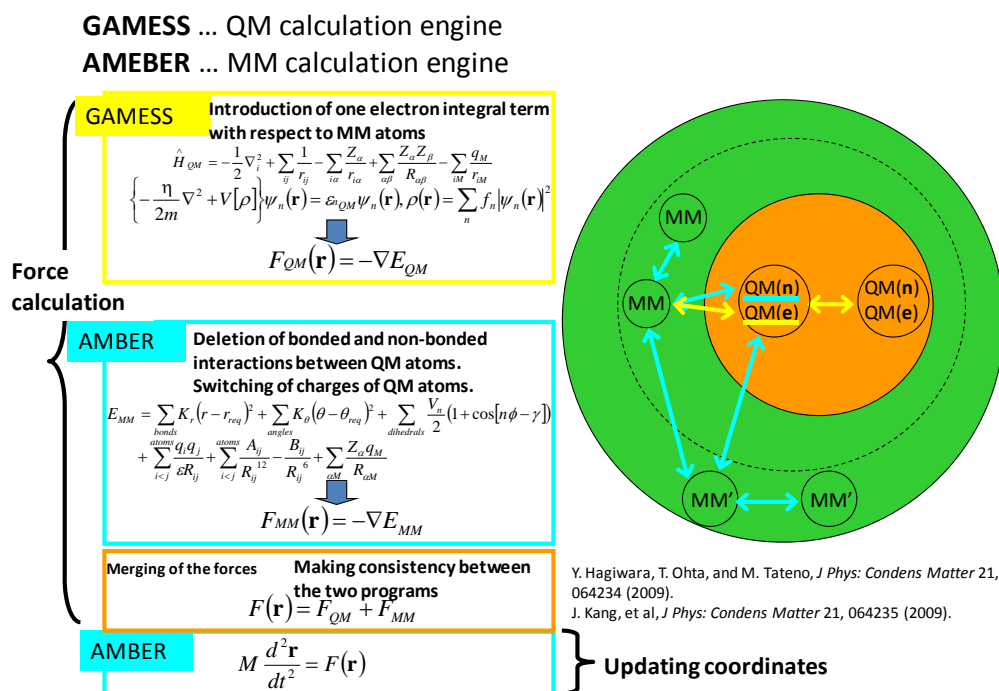


図5 QM/MMハイブリッド分子動力学計算・インタフェースシステム概念



本研究では、この計算システムの機能をさらに拡張して、生体分子のダイナミクス（運動性）を合わせて調べるための計算法と組み合わせて用いました。こうした分子のもつダイナミクスを調べる計算法を「分子動力学シミュレーション」と呼びます。したがって本研究では、「QM/MM ハイブリッド計算」と「分子動力学シミュレーション」とを融合した「**QM/MM ハイブリッド分子動力学シミュレーション**」と呼ばれる、最先端の計算手法を用いました。これにより、巨大な生体分子に対しても極めて高精度なコンピュータ・シミュレーションを実行することができます。

本研究では、QM 原子として、エディティング反応の活性部位 77 原子を設定し、その他の約 165,000 個の原子を MM 原子として、計算が行われました（図 1 も参照のこと）。

### 3) エディティング反応のしくみ

前述の計算の結果、以下の事実が明らかになりました。

- ① エディティング反応は、LeuRS が駆動する反応ではなく、tRNA<sup>Leu</sup> 自身が水分子を活性化して、アミノ酸との結合部位を切断する自己切断反応、すなわち、リボザイム（RNA 酵素）である。
- ② タンパク質部分（LeuRS）は、反応が生じやすい環境を創るだけでなく、反応の途中で現れる、エネルギーの高い状態を安定化する役割も果たしている。
- ③ したがってこの反応は、タンパク質が「手助け」するリボザイム反応であり、「リボザイム/タンパク質・ハイブリッド触媒」と呼ぶべき反応系である。
- ④ こうした反応機構をもつ酵素はこれまでに存在せず、新しい酵素カテゴリに属する新規の生体反応系の発見である。

生体反応を含むすべての化学反応には、それらが起こるために、エネルギーの高い壁を乗り越える必要があり、これを「活性化エネルギー」と呼びます。エディティング反応の場合には、本研究におけるコンピュータ・シミュレーションにより、約 23kcal/mol の活性化エネルギーが必要であることが明らかになりました。これは、これまでに実験的に明らかになっている、他のリボザイム反応における活性化エネルギーと非常によく一致しています。したがってこのことは、コンピュータ・シミュレーションの正しさを示しています。

本研究で得られた詳細な反応機構は、その他の ( $\text{tRNA}^{\text{Leu}}$  に対する) 実験結果ともよく一致していることが明らかになりました。他方で、これまでエディティング反応の研究は、主としてタンパク質部分ロイシル tRNA 合成酵素 (LeuRS) のアミノ酸を人為的に変化させて、そのアミノ酸が (反応において) どのような役割を果たしているかを調べるなどの実験が中心でした。しかしこれらは、他のタンパク質の場合に比較して、あまりうまくいきませんでした。その理由はこれまでよくわかりませんでした。本研究により明快な解答が得られました。すなわち、エディティング反応を駆動しているのは、LeuRS ではなく  $\text{tRNA}^{\text{Leu}}$  であるために、LeuRS に対する解析のみでは、反応に重要な部位とそのはたらきが、特定できなかったというわけです。

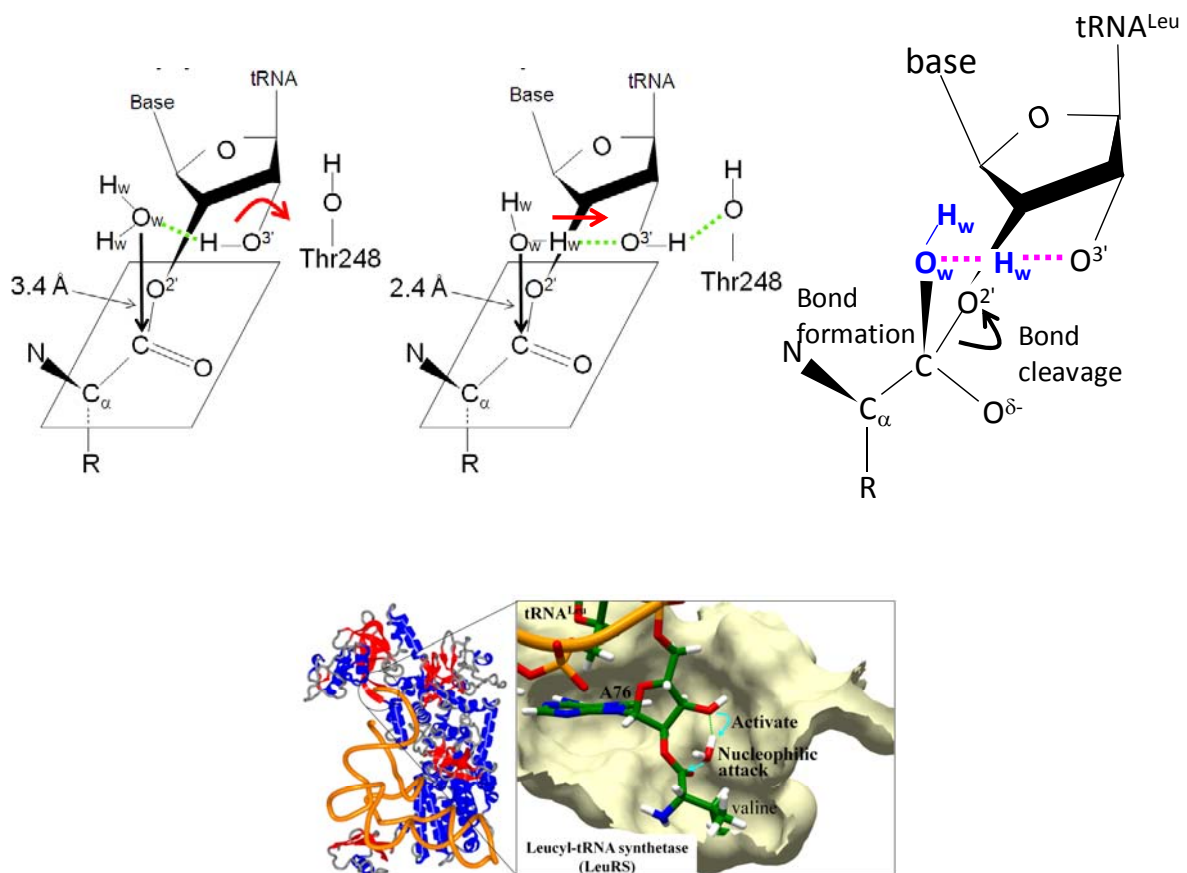


図6 エディティング反応のしくみ。上図は、下図の A76-valine 領域を模式的に示している。

以下の表に、これまでに明らかになっているリボザイム反応を整理しました。これにより、従来のリボザイム反応と何が同じで、何が異なるか、一目瞭然になりました。すなわちエディティング反応は、タンパク質がリボザイム反応を促進している点において、他のリボザイムとは全く異なる反応であることがわかります。

Systems	Activator	Nucleophile	Involvement of protein
Group I intron	Divalent metal ions	2'-OH	×
HDV ribozyme	Divalent metal ions	2'-OH	×
Hairpin ribozyme	Nucleotide bases	2'-OH	×
VS ribozyme	Nucleotide bases	2'-OH	×
<i>glmS</i> ribozyme	Nucleotide bases	2'-OH	×
Hammerhead ribozyme	Nucleotide bases	2'-OH	×
Peptidyl transferase in Ribosome	2'-OH	H <sub>2</sub> N-	△
Deacylation of peptidyl-CCA in Ribosome	2'-OH	H <sub>2</sub> O	△
Class Ia aaRSs (LeuRS, IleRS, ValRS), class IIa ThrRS <sup>5</sup> and class IIc PheRS	3'(2')-OH	H <sub>2</sub> O	○

表1 これまでに明らかになっている様々なリボザイム反応のしくみ。  
赤字は、エディティング反応（ハイブリッド酵素）の特徴を示している。

## <今後の発展>

本研究は、現在の実験がもつ限界を乗り越えるために、最先端のコンピュータ・シミュレーションを用いて、生体反応のしくみを解明したものです。その結果、全く新しい酵素カテゴリを発見しました。すなわち、リボザイムがタンパク質によって「手助け」されることで、より効率的な反応を行う「ハイブリッド酵素」の発見です。

これまで生体反応の研究においては、コンピュータ・シミュレーションは、決して十分に役立っているわけではありませんでした。むしろその計算結果は、あまり信頼されていないのが現状です。しかし近年になって、高精度で高効率な、最先端の計算法を用いること

によって、実験だけでは得ることのできない、詳細で高精度な情報を獲得することも可能になってきました。

本研究は、その先駆的な研究といえるものです。これは、従来とは異なる、より高精度な計算法（全電子 HF/DFT ハイブリッド計算）を、「QM/MM ハイブリッド分子動力学シミュレーション」内で用いている点に、そのひとつの理由があります。従来のこうした計算では、すべての電子を取り扱わない（原子内の電子のうち外側に存在している電子だけを扱う）計算法が通常でした（現在も）。また、分子動力学計算を行わないで、単にエネルギーを小さくする（エネルギー最小化）のみの計算を用いる場合も、いまだに数多くあります。

しかし、そうした計算法では多くの問題があることも、本研究を通して明らかになってきました。逆に、本研究で用いたレベルの計算法が、今後のスタンダードになるならば、高精度のコンピュータ・シミュレーションによる、バイオの新しい研究領域が創出されていくものと考えられます。本研究チームではこれを「量子構造生物学」と呼び、その創出と普及とに努力しているところです。

ところで、1980年代のリボザイムの発見によって、「生命の起源」に新しい発展がもたらされました。すなわち、最初の原始生命は、RNA からできていたという仮説です。これを RNA ワールドと呼びます。そこでは、すべての生体機能が RNA によって担われていたと考えられています。その後、次第に現在のような DNA やタンパク質が重要なはたらきをもつ生物に移行したというわけです。

では、どのようにして、RNA ワールドから現在の生命へと変化したのでしょうか？ そこには大きなギャップがあって、簡単には埋められそうにもありません。ところがそこで、本研究において発見された「ハイブリッド酵素」の役割があったと考えられるのです。すなわち、RNA ワールドと現在の生命とを、ハイブリッド酵素が仲立ちしたのではないかという考え方です。

このように本研究における発見は、今後、「生命の起源」の研究を、さらに強く刺激することになると考えられており、以後の研究の展開が強く期待されています。しかもこの意味における生命進化の研究は、元々コンピュータ・シミュレーションによる結果（本研究）から得られたものです。生命科学において、コンピュータ・シミュレーションが全く新しい重要な「事実」を発見したという例は、従来はほとんど見られません。したがってこの度の研究が、今後の飛躍的な生命科学の展開の試金石にもなると考えられます。

前述のように本研究は、こうした理由により「量子構造生物学」の先駆的な成果といえるものです。こうした高精度のコンピュータ・シミュレーションを、実験による研究と密接に組み合わせることによって、医療や工学への応用も飛躍的に発展していくものと考えられます。

本研究は、科研費・基盤研究B「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」(平成22年4月～25年3月)、科学研究費補助金・特定領域研究「次世代量子シミュレータ・量子デザイン手法の開発」における公募研究「量子ハイブリッド分子動力学法による生体機能の量子デザイン」(平成18年4月～21年3月)、および筑波大学・TARAプロジェクト「電子ダイナミクスに基づく生体物質の機能構造および反応機構の構築原理」(平成18年4月～21年3月)の一環として行われました。

## ＜参考資料＞

[1] 2009年5月31日 報道機関への資料提供(筑波大学)

1個の水素原子の動きによって活性化される生体反応の巧妙なしくみ

—三位一体のコンピュータ解析による生命機能の解明—

<http://www.tsukuba.ac.jp/public/press/090531.pdf>

[2] 2009年1月16日 報道機関への資料提供(筑波大学)

生命のしくみを電子のレベルで解明するための高精度かつ高速なコンピュータ・プログラムを開発

—タンパク質や遺伝子(DNA)の研究に応用—

[http://www.tsukuba.ac.jp/public/press/090116\\_2.pdf](http://www.tsukuba.ac.jp/public/press/090116_2.pdf)

[3] Yohsuke Hagiwara, Martin J. Field, Osamu Nureki, and Masaru Tateno, “Editing Mechanism of Aminoacyl-tRNA Synthetases Operates by a Hybrid Ribozyme/Protein Catalyst”, *Journal of American Chemical Society*, in press.

## <用語解説>

### 量子力学(Quantum Mechanics)

電子などのように、非常にサイズの小さい(微視的な)世界における力学を記述する理論体系。シュレーディンガー方程式と呼ばれる基礎方程式を解くことによって、それらの粒子の運動の様子がわかる。QMはQuantum Mechanicsの略。

### 古典力学

巨視的な世界における力学を記述する理論体系。ニュートン力学ともよばれる。古典力学は量子力学の近似であり、電子や素粒子のふるまいを記述することはできない。MMはMolecular Mechanicsの略で、ここでは古典力学の意味で使われている。

### QM/MM 計算インターフェース・プログラム

既存の優れたQM計算プログラムとMM計算プログラムを結合させることにより、QM/MMハイブリッド計算を実現するためのインターフェース・プログラム。それぞれの既存のプログラムの長所をそのまま活かせると同時に、それらの短所を互いに補うことも可能となり、より高度な計算が実現できる点に特長がある。QM/MM計算インターフェース・プログラムにおいては、これまでにChemShellやPUPILなどが知られているが、国内では、生体分子に対して高精度かつ容易に適用可能なものが、これまでなかった。

### DNA 酵素

本研究において発見された「ハイブリッド触媒(酵素)」は、タンパク質酵素、RNA酵素に次ぐ、生物にとって「第3の酵素カテゴリ」といえるものである。実際には、それらの他に、DNAとRNAが結合して、DNA部分がRNAに作用するDNA酵素も存在する。しかしこのDNA酵素は、生体内にはいまだ発見されておらず、試験管内のみで生じる現象である。そのため本稿においては、生物がもつ酵素の中に、DNA酵素を含めていない。



## 本研究の発表者

国立大学法人筑波大学

計算科学研究センター 物質生命研究部門 生命科学分野 准教授

舘野 賢 (たての まさる)