



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

平成 21 年 5 月 31 日

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—

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、東京大学の研究チームと共同で、すべての生物において不可欠なタンパク質のひとつ、ロイシル tRNA 合成酵素（LeuRS）が、RNA と共同で行う最も重要な生体反応のひとつ（エディティング反応）が活性化される仕組みを、筑波大学の超並列コンピュータ PACS-CS を駆使して解明しました。研究の結果、RNA 内のたった 1 個の水素原子の動きによって、この酵素・RNA 複合体が活性化されて反応が生じる仕組みを詳細に解明しました。

この研究により、生物はわずか 1 個の水素原子の位置を精密に制御することで、エディティング反応を活性化するという巧妙な仕組みが明らかになりました。以上の成果は、バイオインフォマティクス、構造生物学（理論）、および計算物理化学（大規模計算技術）の、3 つの研究分野に渡る解析技術を統合して行われたものです。したがって、いわば「三位一体のコンピュータ解析」による生命機能の解明といえる成果です。今後の生命科学において重要な方向として現在発展中であり、関連する他の課題への応用も進められています。

この研究成果は、5 月 30 日（土）〔日本時間 31 日（日）〕付け欧州生化学会連合誌フェブス・レターズのオンライン版に、本年 1 月 30 日に先行して同誌に掲載された論文と合わせ、2 編の速報論文として掲載されました。

＜研究の背景＞

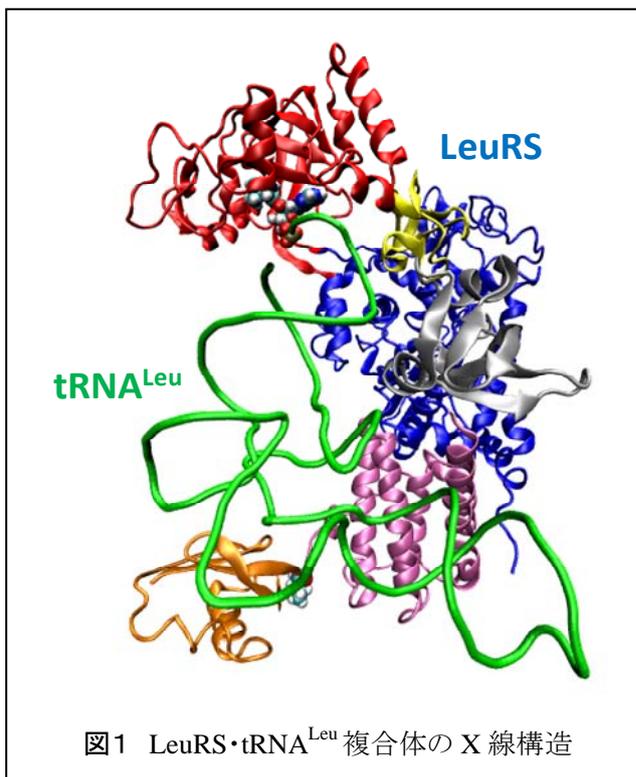
ロイシル tRNA 合成酵素 (LeuRS) は、アミノアシル tRNA 合成酵素 (aaRS) ファミリのメンバーです。これらは、DNA (ゲノム DNA) がコードする遺伝情報を、タンパク質のアミノ酸配列へ変換するために不可欠な役割を果たしています。すなわち、aaRS がアミノ酸を tRNA (トランスファーRNA) に結合させ、それによってアミノ酸がリボソーム (タンパク質合成のための生体内の工場) へ運搬され、そこですべてのタンパク質が創られます。生物は、20 種類の生体内の基本的なアミノ酸それぞれに対応して、20 種類の aaRS を持っています (生物によっては、より複雑な仕組みを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「アミノ酸を運搬する tRNA」(これを $tRNA^{Leu}$ と記します) に、ロイシンを結合させます。ここで LeuRS が、もしも誤ったアミノ酸を $tRNA^{Leu}$ に結合させた場合、LeuRS 自身がその誤りを訂正するはたらきももっています。すなわち、一旦 $tRNA^{Leu}$ 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るための反応

を行います。これを「編集」(エディティング) 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 4 種類の aaRS も同様に、エディティング反応を行います)。そのためすべての生命が、この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あると考えられ、これまでも多くの研究がなされてきました。

エディティング反応では、誤ったアミノ酸と $tRNA^{Leu}$ との間の結合を、水分子が攻撃することによって開始されることは既に知られていました。したがって、LeuRS によるエディティング反応の仕組みを詳細に知るためには、以下の情報が必要です。

- 1) LeuRS \cdot $tRNA^{Leu}$ 複合体の 3 次元 (立体) 構造: X 線結晶構造解析 (実験) によって既

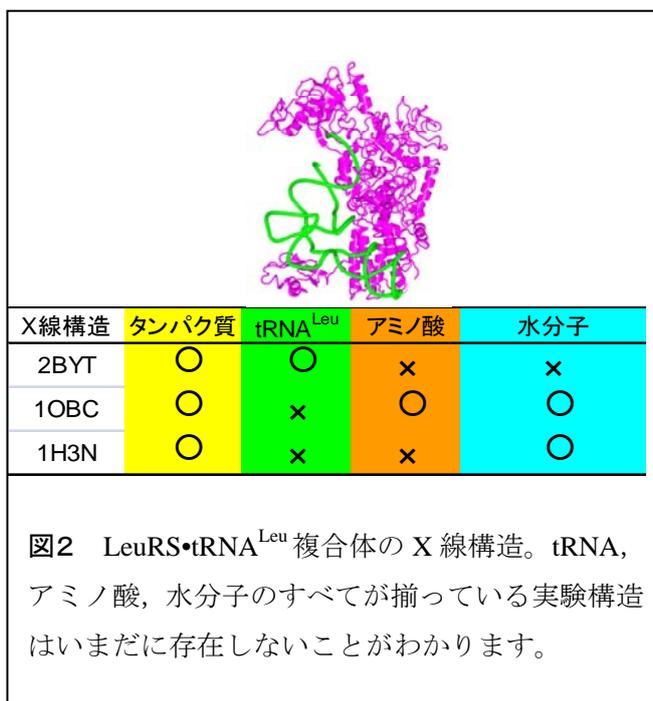


に知られている。

- 2) tRNA^{Leu}に誤って結合されたアミノ酸の立体構造（実験では得られていない）。
- 3) tRNA^{Leu}-アミノ酸の間の結合を攻撃する水分子の立体配置（実験では得られていない）。
- 4) アミノ酸を結合させた場合のタンパク質の立体構造変化（未知）

ところがこれまでは、上記の 2-4 については、実験によって知ることができませんでした。なぜなら、以上のすべてのファクタが揃った場合、実験においては反応が起こってしまうため、反応開始の仕組みや反応途中の様子などを解析することができなかつたためです。

そこで館野准教授らの研究グループは、こうした実験的手法による研究の困難を乗り越えるために、筑波大学の超並列コンピュータを駆使した理論研究を進めました。それにより、生命のもつ極めて精妙な仕組みが明らかになりました。



<研究の内容>

この研究でエディティング反応を解析するために、同研究グループは以下の3つの解析技術を融合して、コンピュータ・シミュレーションを実行しました。

1) 新しい分子ドッキング計算技術の開発

エディティング反応の仕組みを知るためには、上記の4つの情報が不可欠ですが、実験では、前述のように LeuRS • tRNA^{Leu} 複合体の立体構造しか、得られていませんでした。すなわち、ロイシン以外のアミノ酸が、誤って LeuRS に結合している状態や、さらにはそこに、水分子がどのように結合しているか、それらの情報も解析に不可欠です。しかし上述のように、それを実験的に明らかにすることは、これまでできませんでした。そこで同研究グループは、LeuRS • tRNA^{Leu} 複合体の立体構造（X線結晶構造解析によって既知）に、（ロイシン以外の誤った）アミノ酸をコンピュータ内でドッキングさせました。この計算技術は、医薬品設計（ドラッグデザイン）における、薬

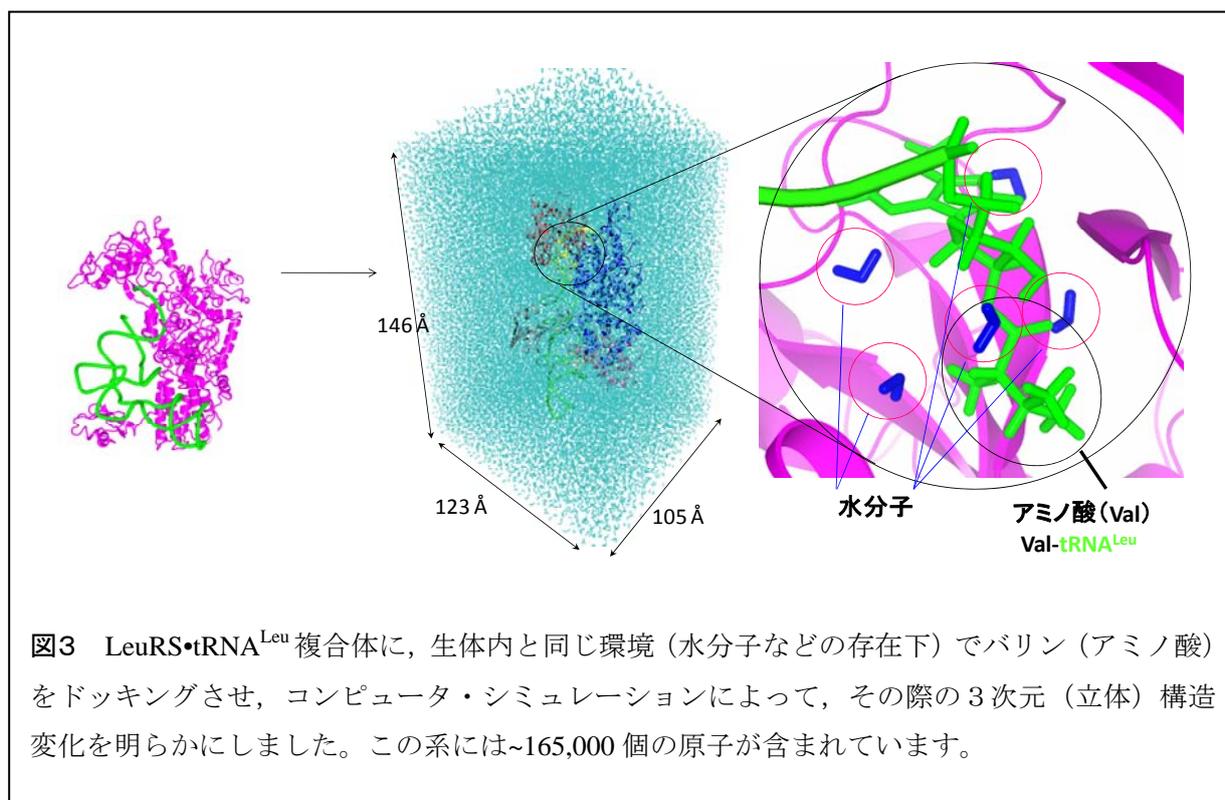
エディティング反応の解析に必要な分子の情報

- 1) LeuRS•tRNA^{Leu} 複合体
- 2) 切断反応を受けるアミノ酸(ここではバリン)
- 3) バリンを攻撃する水分子
- 4) バリンが結合することで起こる複合体の構造変化

の候補となる化合物とタンパク質との結合を予想する問題と共通であり、分子ドッキング・シミュレーションと一般に呼ばれます。

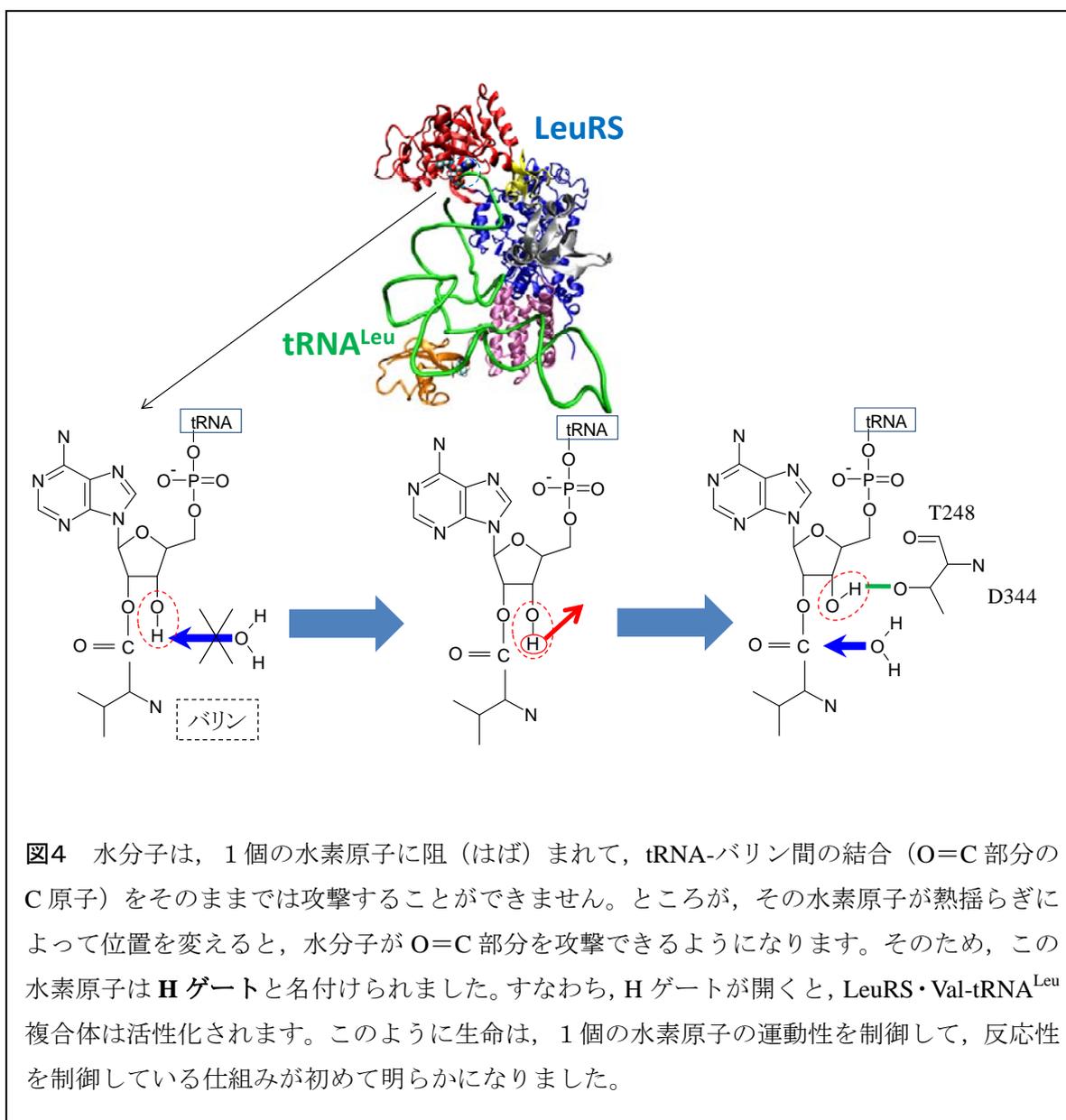
しかし従来は、タンパク質の周囲に存在する水分子の位置までも、高い効率で同時に調べることができる速い計算法は存在しませんでした。そこで同研究グループは、ドラッグ（ここではバリンと呼ばれるアミノ酸）を LeuRS・tRNA^{Leu} 複合体にドッキングさせると同時に、これらの分子どうしの中に深くはまり込む水分子の配置についても、計算の中に同時に取り込んで解析することのできる、**新しい分子ドッキング・計算アルゴリズムを開発**しました。

この方法では、LeuRS・tRNA^{Leu} 複合体を、生物の細胞内と同じ生理的な環境に置いて、これに対してバリン (Val) をコンピュータ内でドッキングさせました。このようにして、実験的には得ることのできない、しかし生体内では存在する LeuRS・Val-tRNA^{Leu} 複合体を、生体内と同じ条件（=周囲に多くの水分子などが存在する）の元で得ることができるようになりました。結果としてこれは、周囲の水分子までを含めると約 165,000 個の原子からなる、巨大な分子構造体をコンピュータ内で形成することになりました。



2) 分子動力学(MD)シミュレーション: 構造生物学的解析

先に得られた LeuRS・Val-tRNA^{Leu} 複合体の中で、Val-tRNA^{Leu} 結合の周囲に存在する水分子のうち、どれがバリン (Val) -tRNA^{Leu} の間の結合を攻撃することができるのか、さらにコンピュータ・シミュレーションを用いて解析しました。ここで用いたのは、分子動力学 (MD) シミュレーションといわれる計算法で、LeuRS・Val-tRNA^{Leu} 複合体と周囲の水分子などの運動性を、原子レベルで詳細に調べることができる計算法です。

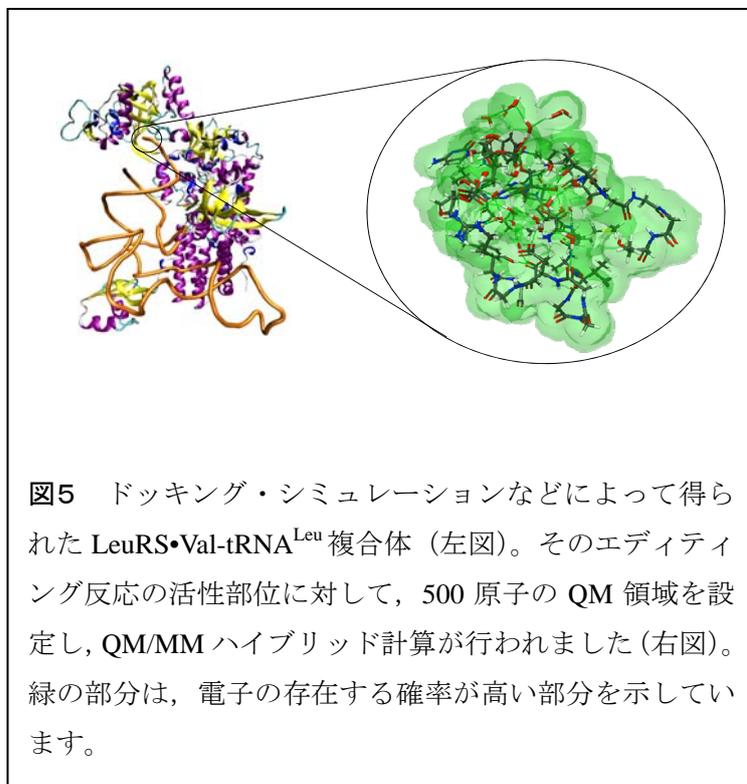


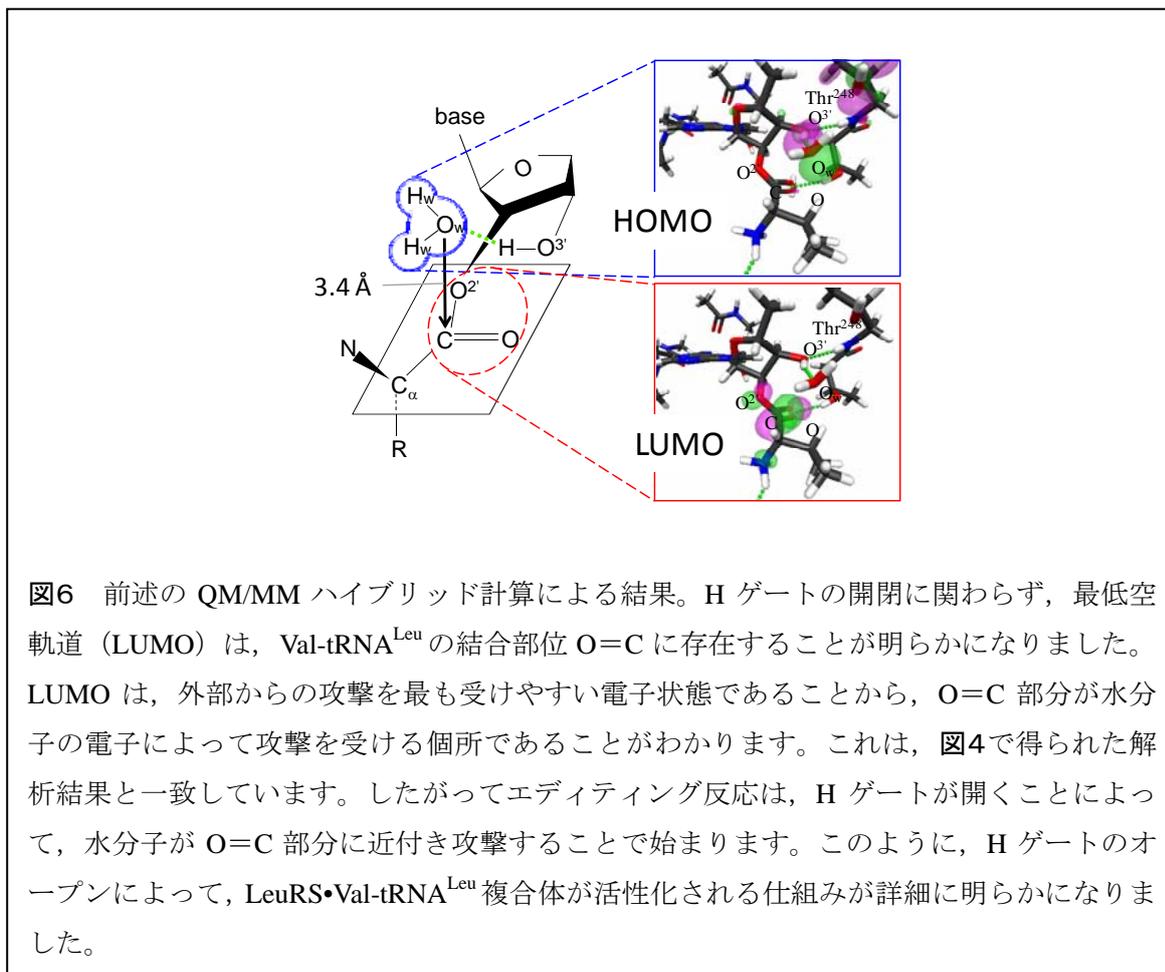
その結果、通常の LeuRS・Val-tRNA^{Leu} 複合体の立体構造のままでは、反応は開始されないことがわかりました（図4左）。ところが、tRNA^{Leu}-バリン（Val）の結合に近いところに存在する tRNA^{Leu} の1個の水素原子が、熱運動によって動いて位置を変えると（図4中）、その側に存在していた水分子が、tRNA^{Leu}-バリン結合を攻撃できるようになることが、明らかになりました（図4右）。すなわち tRNA^{Leu} のこの水素原子は、水分子が攻撃する際のゲートになっており、これが開くと複合体は活性化して、水分子が攻撃することがわかりました。

このように、生命はたった1個の水素原子の位置の変化によって、反応を高度に制御している様子が、初めて明らかになりました。この度の研究によって見出された、1個の水素原子によるこのゲートは、「Hゲート」と名付けられました。

3) QM/MM ハイブリッド計算による電子レベルでの反応のしくみの解析

Hゲートの開閉に伴って、エディティング反応の生じる部位にどのような変化が生じるか、さらに電子レベルでの微細な研究が進められました。これは、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・インターフェースシステム（本年1月16日にプレスリリースを実施）を用いて解析されたものです。QM原子として、エディティング反応の活性部位500原子を設定して、計算が行われました（図5を参照）（他に、120-QM原子の計算結果との比較も行われました）。この計算システムの詳細については、本年1月16日付のプレスリリース資料を参照下さい。





この計算の結果、図4において水分子の攻撃を受けることが明らかになった部位 (C=O 部分) には、最低空軌道 (LUMO) といわれる、活性な電子状態の存在することが明らかになりました (図6を参照)。LUMO は電子の攻撃を受けやすい部分で、C=O 部分が水分子によって攻撃されることを示しています。これは、上述の結果 (図4右図) とも一致しています。

このようにして、LeuRS・Val-tRNA^{Leu} 複合体が活性化され、エディティング反応の開始される仕組みが、立体構造および電子構造に基づいて、詳細に明らかになりました。

<今後の発展>

この研究は、バイオインフォマティクス、構造生物学（理論）、計算物理化学（大規模計算技術）の3領域に渡る解析技術を統合して行われたものです。それにより、エディティング反応における実験の限界を、コンピュータ・シミュレーションで解決し、実験的に解決することが困難な課題についても、コンピュータで解析することが初めて可能となりました。これは今後、他の多くの生体反応の仕組みを解明する際にも、不可欠なものになっていくと考えられます。また、そうした研究成果を元に、医薬品の開発や生命工学などの分野へ、さらに研究が発展していく可能性を秘めています。舘野准教授の研究グループでは、現在、既に複数の生体反応について同様な解析法が適用され、その仕組みの詳細な解明が進められています。今後、得られた成果の医薬品開発などへの展開も強く期待されています。

本研究は、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。また本研究は、筑波大学の研究グループがコンピュータを用いた理論解析を行い、東京大学の研究グループが計算結果の正当性について検討しました。

<プレスリリース対象の論文>

[1] Yohsuke Hagiwara, Osamu Nureki, Masaru Tateno, Identification of the nucleophilic factors and the productive complex for the editing reaction by leucyl-tRNA synthetase, *FEBS Letters*, 印刷中.

[2] Yohsuke Hagiwara, Osamu Nureki, Masaru Tateno, Structural modelling of the complex of leucyl-tRNA synthetase and mis-aminoacylated tRNA^{Leu}, *FEBS Letters*, **583** (2009), 825-830.

<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。

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)

国立大学法人東京大学

医科学研究所 基礎医科学部門 染色体制御研究分野 教授

濡木 理 (ぬれき おさむ)