

### VII-3 計算生命グループ

准教授 舘野 賢

准教授 Mauro Boero (～H20 年 11 月)

大学院生 (6 名)

当グループは、「生体機能情報分子システムによる重要な生体反応の分子・電子ダイナミクスの解明」を目的として、研究を推進している。そのために、物理学における基本原理に基づき、生体機能分子システムの電子構造・分子構造を正確に記述し、生物学的に重要な反応機構を解析する。こうした研究を高精度に実現するためには、解析対象を省略することなく、高度に複雑かつ巨大な生体分子システムをリアルなまま、「まるごと」理論的に解析することが最も重要である。

そのためには、量子力学計算などを表面的に適用するのではなく、構造生物学理論や情報科学理論の応用 (Structural Bioinformatics) もまた不可欠となる。その際には、大規模計算 (計算科学) が必要となる場面も多く、筑波大学・計算科学研究センタなどと密接に連携し、超高速・超並列コンピュータを駆使して、それらの課題に取り組む。

こうした様々な解析技術を集中的に駆使することによって、重要な生物機能を担う生体機能分子システムのダイナミクスを解明し、以って生物機能の実体を原理的に明らかにすることが、当研究グループの基本方針である。それらによって、ひいては複雑な生体システムに内在する物理的法則性を解明し、生命科学におけるゲノムワイドな現実の諸課題へと、広くそれらの知見を応用することを目指して研究を推進している。

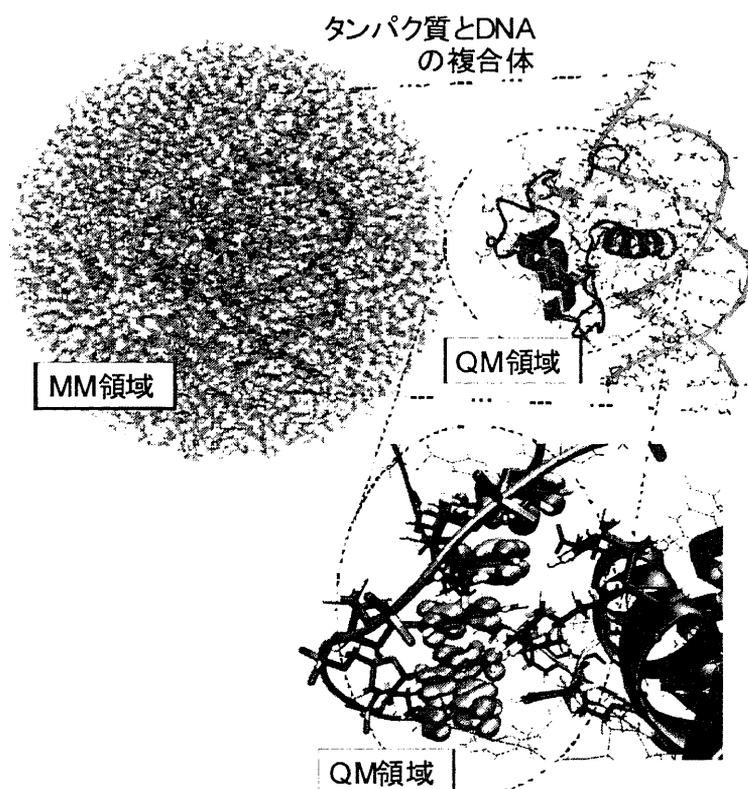
特に本年度は、超並列コンピュータに適した高精度な計算システムの開発も新たに推進した。これは、量子理論 (全電子 QM 計算) と古典理論 (MM 計算) を同時に用いることで、高精度な計算を高効率に行うための QM/MM ハイブリッド計算システムであり、そのために QM/MM インターフェース・プログラムを新たに開発して、大規模かつ高精度な QM/MM ハイブリッド分子動力学 (MD) 計算システムを実現した。さらにこれを用いて、タンパク質酵素・RNA 酵素 (リボザイム) や、シトクローム酸化酵素・アズリンなどの遷移金属結合タンパク質 (電子移動・プロトン移動などを担う) 等に応用し、まったく新しい反応機構を見出すなど、当初の予想をはるかに超える研究成果を創出することに成功した。

これらの成果は、量子シミュレーションを単に形式的に適用するだけでは到底得られないものである。バイオインフォマティクス解析技術の開発、構造生物学(理論)の応用、さらに計算物理化学などに渡る、多くの関連領域を生体高分子の機能と構造の構築原理の解明のために、統合・融合することによって初めて成し遂げられた成果である。今後の理論生命科学自体の方向性を明示するものでもあり、我々はこれを「量子構造生物学」の創出として、広く提唱しているところである。またその結果として、現在、多くの重要な共同研究へと発展しつつある。

### 【1】高精度かつ高効率な QM/MM ハイブリッド分子動力学計算システムの開発 [文献 3, 10]

タンパク質などの生体機能高分子の場合には、そのサイズが巨大であることから、その化学反応（酵素反応や電子・プロトン移動など）を正確に解析するためには大規模な計算が必要となる。そのため、生体分子をふたつの領域に分けて計算する方法（下図）が、現在、最先端の手法として脚光を浴びている。すなわち、

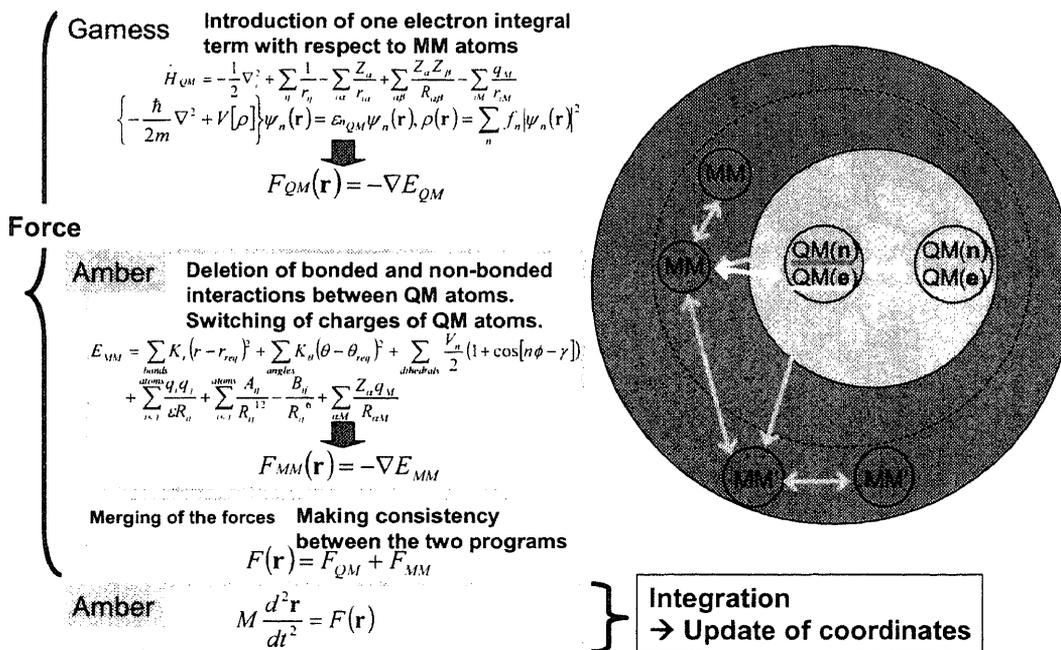
- 1) 電子を含めて化学反応を正確に取り扱う量子力学（QM）計算：  
非常に大きな計算のため、小さな領域をカバー
- 2) 化学反応に直接には関係しない領域に適用する古典力学（MM）計算：  
比較的小さな計算のため広い領域をカバー



とに分けることで、大きな生体分子も効率よく計算することを目的とした方法である。これは一般に、QM/MM 計算と呼ばれている。本課題においては、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・インターフェースプログラムを新たに開発し、これを筑波大学の超並列大型コンピュータ PACS-CS などで稼働させることにより、新しい QM/MM ハイブリッド分子動力学計算システムを構築した。さらに、このシステムを用いて、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た結果、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た。

以上の開発・応用は、21年1月にプレスリリースを実施し、全国紙などにおいて、その成果が紹介された。

**Gamess ... QM calculation (all electron based HF/DFT hybrid method)**  
**Amber ... MM & MD calculation**

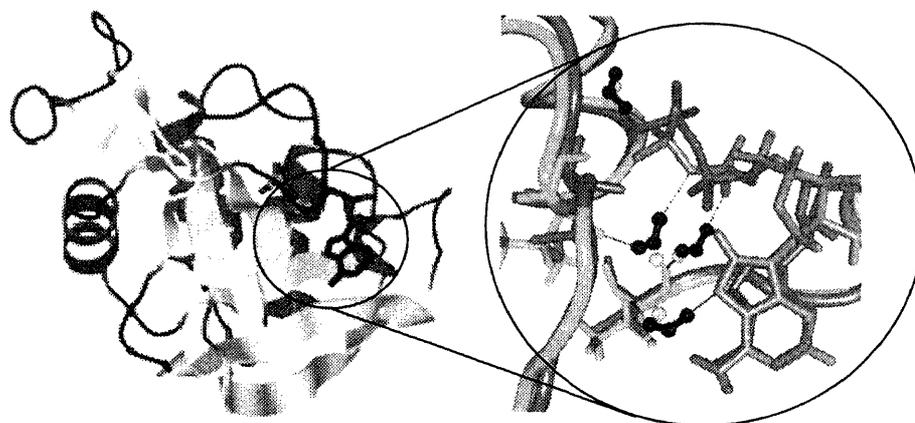


QM/MM ハイブリッド・インターフェースプログラムの役割

**【2】ダイナミカルな分子ドッキング計算技術の開発:FSDD 法の開発 [文献 6]**

量子シミュレーションを実行するためには、高精度の計算モデルが不可欠である。X線結晶構造解析などによって実験的に得られた生体高分子の立体構造には、反応に必須の分子種に関する情報が欠如している場合や、技術的な制限により立体構造に誤謬を含む場合さえもある。例えば、水分子自体が反応に寄与する系では、溶媒水分子の位置が実験的に観測できない場合には、その配置情報を理論的に予測することが必須である。また、触媒反応の対象となる分子（基質とよばれる）を酵素と混ぜた場合には、実際に反応が生じるわけであるから、酵素・基質複合体の結晶を実験によって得ることはできない。仮に基質を含む結晶を何らかの方法によって得ることができたとしても（酵素単体で結晶を作成した後、基質を結晶にしみこませるなど）、結晶内部での酵素反応によって実験データの質が深刻に低下する場合も多い。したがって、反応の対象となる基質と酵素との複合体の立体構造を得ることは、原理的に極めて困難である（そこで本来の基質の代わりに、反応は起こさずに結合のみ生じる阻害剤を使用して、結晶構造解析を行う場合が多い）。

このように生体高分子の反応機構を解明するためには、実験上の様々な技術的限界が、現在もなお数多く存在するのが実情である。そこで本課題においては、生命科学的に重要な系でありながら、こうした実験的な技術上の困難を回避することのできない系に対して、その限界を理論的に補い、生体分子の立体構造を計算科学的に高精度に再構築するための理論手法の開発を試みた。そのために、基質と酵素との分子間ドッキング・アルゴリズムを新たに開発し（下図）、これを用いて研究の対象となる複合体の計算モデルを構築した。

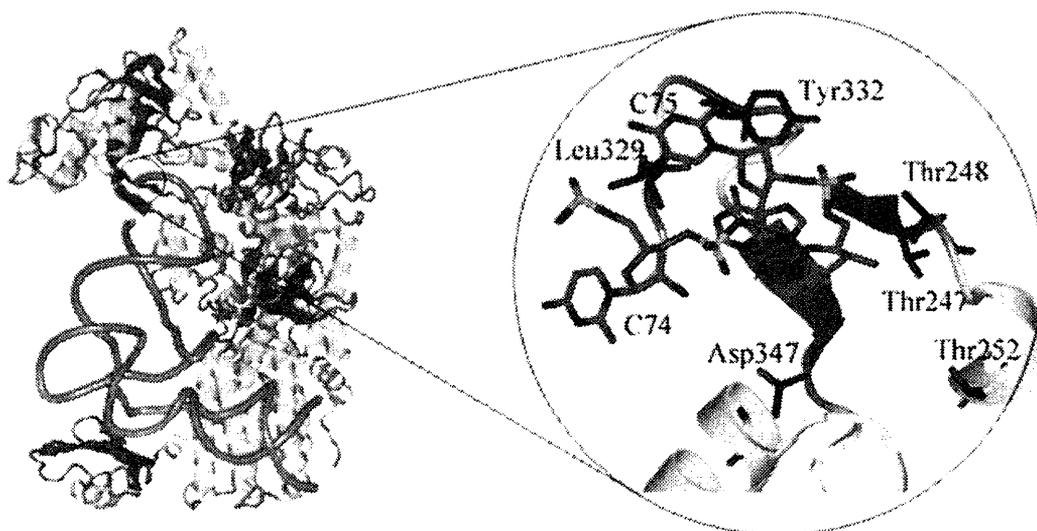


従来の分子ドッキング・アルゴリズムは溶媒水分子を含めずに、しかも酵素の立体構造を固定して計算するのが通常であったが、我々はそれらの制約をすべて置き放ち、溶媒中のタンパク質に対して、そのダイナミカルな立体構造変化を導入した上で、分子ドッキングを初めて実現した。これを FSDD (Fully Solvated Dynamical Docking) 法と名づけた。こうした計算手法は、医薬分子設計の領域ではしのぎを削って開発が行われている課題であり、今後はそうした分野のみならず、本研究における量子デザインのステップにおいても、広く応用が期待される、重要な解析手法である。

### 【3】すべての生物において、遺伝情報の変換を担う酵素反応の動的機構 [文献 8]

以上のようにして構築した精密な計算モデルは、ロイシル tRNA 合成酵素 (LeuRS ; 次ページの図を参照。これはアミノアシル tRNA 合成酵素 aaRS のメンバ) と、その基質として作用する tRNA<sup>Leu</sup>, およびその tRNA<sup>Leu</sup> に結合されているアミノ酸とからなる。ここで LeuRS (分子量~120,000) は、tRNA (分子量~15,000) と複合体を形成し、本来はその 3'-末端に特定のアミノ酸分子を正確に結合させる生物機能を有する酵素である。しかし、互いによく似たアミノ酸分子を認識する際には、その識別が誤る場合もあり、LeuRS 自身がそれを校正・編集する (=誤ったアミノ酸分子を加水分解する) 機能をも有している。これは校正反応 (エディティング反応 ; Editing Reaction) とよばれ、あらゆる生物にお

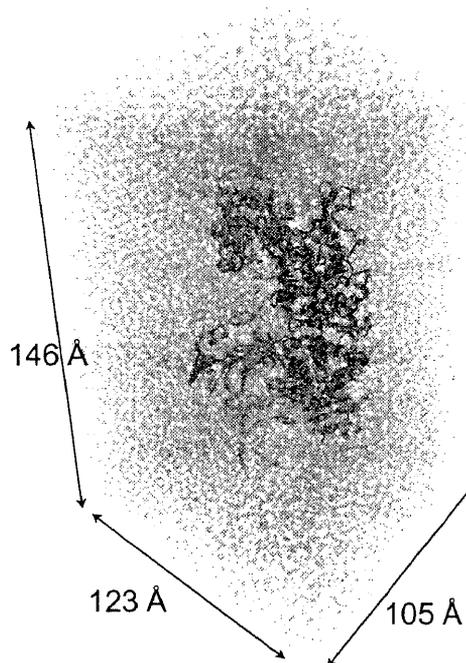
いて遺伝情報の発現……すなわち、すべてのタンパク質の生合成……に、不可欠な反応である。



そこで、LeuRSによる校正反応（エディティング反応）の機構を解明するために、前記の計算モデル（原子数~165,000個）に対してQM/MMハイブリッド計算（まずは静的な計算）を適用し解析した。その結果、攻撃を受けるカルボニル基（C=O）の炭素原子の近傍（2.4 Å）にまで、接近し得る水分子を同定することに成功した。この水分子は、これまで実験的には観測できていないものである。

この点は、LeuRSによるエディティング反応の開始が、水分子による攻撃によって開始されると考えられていた従来の研究結果と一致している。

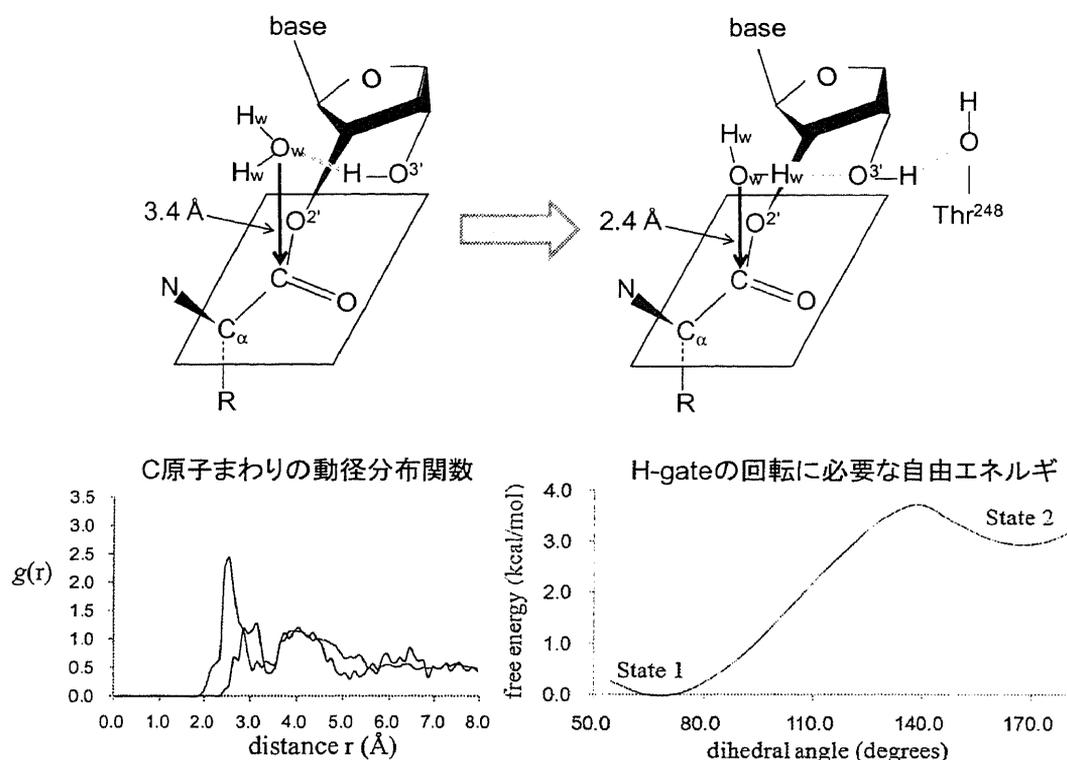
実際、結晶構造解析においても、反応部位から4 Åにまで接近した水分子が、阻害剤との複合体においてのみ（tRNA<sup>Leu</sup>は含まれない結晶構造）、これまでも見出されていた。ところが、この阻害剤との複合体構造においては、求核性の水分子が存在する位置は、攻撃されるカルボニル基から遠いばかりではなく、 $\pi$ 電子を攻撃し得る向きとは正反対に位置しており、そのまま



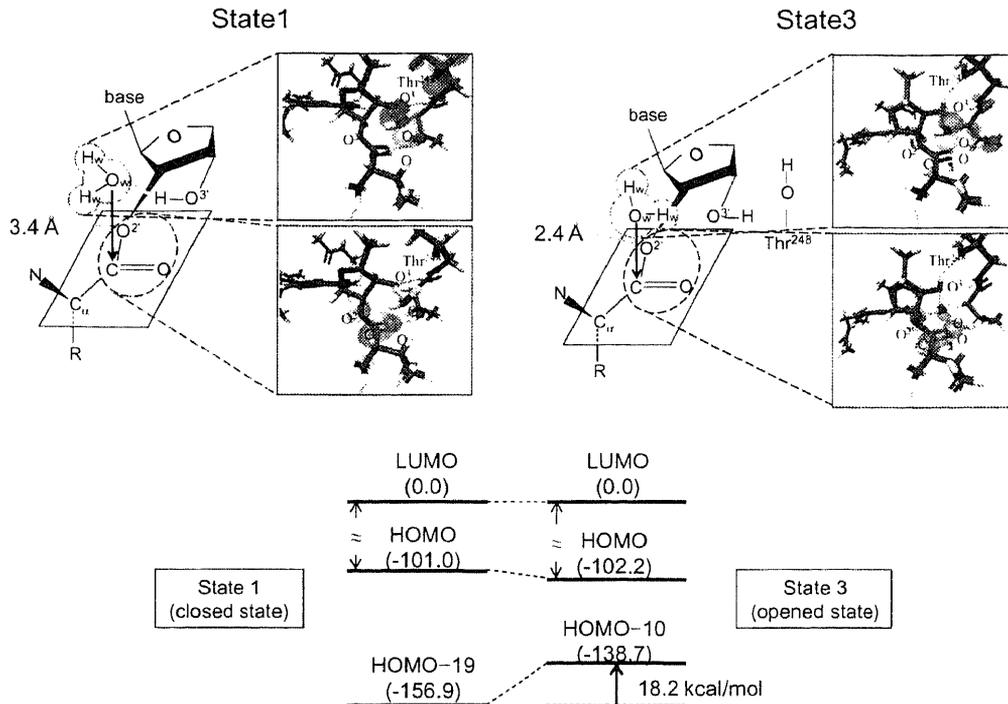
では水分子の攻撃は不可能な位置であった。そのため、想定されている反応機構に対して異をとる研究者もおり、意見が分かれる原因となっていた。

こうした状況にあった LeuRS の反応機構の研究において、本研究により初めて、求核剤として基質を攻撃し得る溶媒水分子の存在と、その配置とが明らかになった（下図参照）。計算結果によると、反応の前には、この求核性の水分子は基質の一部と水素結合を形成することにより、その位置が安定化されている。ここで、水分子が水素結合しているのは、基質である tRNA<sup>Leu</sup> の 3'-HO 原子である。ところが、この 3'-HO 原子が動いて、この水分子との水素結合が切断されると、水分子がカルボニル基に接近することが可能となる。その場合、水分子には著しい電子状態の変化が誘起されることが明らかになった（後述）。そこで本研究では、tRNA<sup>Leu</sup> におけるこの 3'-HO 原子を H-gate と名付け、LeuRS-tRNA<sup>Leu</sup> を活性化するためのスイッチ機能をもつ装置として、同定することに成功した（以下の図を参照）。このように、水素原子 1 個が生体高分子の反応を高度に制御している事実を見出したのは、本研究が最初である。これは、極めて精巧な生体システムの機能制御機構の発見であると考えられる。

ここで、基質分子の LUMO は、一貫してカルボニル基に存在することから、水分子の孤立電子対がこの LUMO を攻撃することを強く示唆している（次ページの図）。その際に、水分子の p 電子の軌道は、最初 HOMO-19 のエネルギーレベルにある一方で、求核剤であ



# 水分子の接近に伴う電子状態の変化



る水分子の接近によってそのエネルギーレベルが上昇し、HOMOに急速に近づくことも、同時に明らかになった。これは、この水分子が求核剤として作用するための準備と考えられ、いわば酵素反応の準備段階、すなわち電子状態が活性化される一過程と考えることができる。

## 【4】TARA プロジェクト [文献 1, 4, 5, 7, 9 など]

「電子ダイナミクスに基づく生体物質の構造と反応機構の解析」(研究代表者：舘野 賢)

当グループを中心としたメンバにより、上記の学内プロジェクトを推進している(最終年度)。本研究課題は、生体高分子のナノスケールの構造と機能発現のメカニズムを、量子理論に基づく計算科学的手法により解明することを目的とし、推進した。そのために、既存の解析システム(CPMD 計算システム)を駆使するだけでなく、超並列コンピュータに適した、さらに高精度な計算システムの開発も新たに行った(前述の計算解析システムの開発)。この計算システムを用いて、タンパク質酵素・RNA 酵素や、シトクローム酸化酵素・アズリンなどの遷移金属結合タンパク質(これらは電子移動・プロトン移動などを担う)等に応用し(前述)、まったく新しい反応機構を見出すなど、当初の予想をはるかに

超える研究成果を、3年の短期間で創出することに成功した（投稿中の分を含む）。

一般に、極めて複雑な立体構造を有する生体機能分子においては、実験データを鵜呑みにしたシミュレーションは、根本的な誤りを導く原因となる。これは、現実にこれまでの実例が示す事実である。実験によって得られたタンパク質構造に内在する誤りを、むしろ理論的に正して、それによって得られた精密な原子座標を計算に用いることによりQM/MM 分子動力学シミュレーションを実行する、この一連のワークフローこそが、次世代の生物物理学において極めて重要なストラテジの第一歩である。量子シミュレーションなどの計算技術の枠を超え、他領域に渡る複数の解析技術をひとつの研究対象に対して統合的に集中して適用することが、次代の新しい生物物理学を開拓する試金石となる。本課題においては、まさにこのストラテジを実際の生命科学の重要問題に対して適用し、その解決を実現することに成功した点に、大きな意義があると考えられるものである。

以上が、本研究課題の基本コンセプトであった。これに基づいて得られた前述の成果は、これまでにない新規の生体反応機構の発見などに結びつき、しかもその一般性がさらに明らかになりつつある。これらを基盤にしてさらに、Systems Biology や Structural Informatics などの新しい研究領域との本質的な融合など、新しい計算技術を一層飛躍的に発展させることが、次の研究課題となる。これは、次世代のまったく新しい生物物理学分野を創出するものと期待される。その基盤となる技術開発およびニューコンセプトの創出を目指した研究を、今後とも推進する考えである。

## 【5】研究業績

### (1) 研究論文

- 1) Yamasaki, K., Kigawa, T., Inoue, M., Watanabe, S., Tateno, M., et al., Structures and evolutionary origins of plant-specific transcription factor DNA binding domains, *Plant. Physiol. Biochem.* **46** (2008), 394-401.
- 2) Scipioni, R., Boero, M., A First Principles Investigation of Water Dipole Moment in a Defective Continuous Hydrogen Bond Network, *J. Chem. Phys.*, **130** (2009), 024502.
- 3) Hagiwara, Y., and Tateno, M., QM/MM hybrid calculation of biological macromolecules using new interface program connecting QM and MM engines, *J. Phys. Cond. Mat.*, **21** (2009), 064234.
- 4) Kang, J., Ohta, T., Hagiwara, Y., Nishikawa, K., Yamamoto, T., Nagao, H., and Tateno, M., Electronic and geometric structures of the blue copper site of azurin investigated by QM/MM hybrid calculations, *J. Phys. Cond. Mat.*, **21** (2009), 064235.

5) Tateno, M. and Hagiwara, Y., Evaluation of stabilization energies in  $\pi$ - $\pi$  and cation- $\pi$  interactions involved in biological macromolecules by ab initio calculations, *J. Phys. Cond. Mat.*, **21** (2009), 064243.

6) Hagiwara, Y., Nureki, O., and Tateno, M., Structural modelling of the complex of leucyl-tRNA synthetase and mis-aminoacylated tRNA<sup>Leu</sup>: *FEBS Letters*, **583** (2009) 825-830.

7) Hagiwara, Y. and Tateno, M., A novel computational scheme for accurate and efficient evaluation of  $\pi$ - $\pi$  and  $\pi$ - $\sigma$  stacking: *J. Phys.: Cond. Mat.*, **21** (2009), 064243.

8) Hagiwara, Y., Nureki, O., and Tateno, M., Identification of the nucleophilic factors and the productive complex for the editing reaction by leucyl-tRNA synthetase, *FEBS Letters*, in press. (Cover)

9) Boero, M., Kang, J., Tokumoto, S., and Tateno, M., A First-Principle Exploration of Heme a and Heme a<sub>3</sub> of the Bovine Cytochrome c Oxidase in Reduced and Oxidized Charge States, *J. Comp. Theor. Nanosci.*, in press.

10) Ohta, T., Hagiwara, Y., Kang, J., Nishikawa, K., Yamamoto, Y., Nagao, N., and Tateno, M., Evaluation of Electronic and Geometrical Properties of the Blue Copper Site in Fully Solvated Azurin by QM/MM Hybrid Calculations Using a New Interface Program Connecting QM and MM Engine, *J. Comp. Theor. Nanosci.*, in press. (Cover Image)

11) 舘野 賢, ボエロ マウロ: 第一原理計算が明らかにする生体反応の精巧な仕組み, 生物物理 (日本生物物理学会), **48**, 216-220 (2008).

(2) 学会発表 (主たるもの)

1) Takehiro Ohta, JiYoung Kang, Yohsuke Hagiwara, and Masaru Tateno. Computational study of metal binding sites of biological macromolecules by using QM/MM calculations. International Conference on Quantum Simulators and Design 2008., Tokyo, Japan (2008).

2) Masaru Tateno, Osamu Nureki, and Yohsuke Hagiwara. Computational investigations of mechanisms of enzymatic reaction by using QM/MM molecular

dynamics simulations. International Conference on Quantum Simulators and Design 2008. Tokyo, Japan (2008).

3) Yohsuke Hagiwara and Masaru Tateno. Development of QM/MM molecular dynamics scheme enabling to accurately and effectively evaluate van der Waals interactions. International Conference on Quantum Simulators and Design 2008, Tokyo, Japan (2008).

4) Kang Jiyoung, ボエロ マウロ, 館野 賢, シトクロム c 酸化酵素におけるヘムの立体構造に依存した非対称な分極と電子構造の理論的解析, 特定領域研究「生体超分子構造」第 4 回ワークショップ, 淡路, 2008 年 6 月.

5) 太田雄大, 萩原陽介, Kang JiYoung, 館野 賢. QM/MM 計算による CuA サイトの電子構造および立体構造の理論的解析, 科学研究費補助金特定領域研究「生体超分子の構造形成と機能制御の原子機構」第 4 回ワークショップ, 淡路, 2008 年 6 月.

6) Yohsuke Hagiwara, Osamu Nureki, and Masaru Tateno. Modeling of complex of LeuRS and mis-aminoacylated tRNA<sup>Leu</sup> for which 3'-terminal is bound to the active site of editing. International conference on aminoacyl-tRNA synthetases (aaRS's), From basic mechanisms to systems biology (aaRS2008), Annecy, France (2008).

7) Yohsuke Hagiwara, Osamu Nureki, and Masaru Tateno. Computational investigations of mechanisms of enzymatic reaction by using QM/MM molecular dynamics simulations. World association of theoretical and computational chemists., Sydney, Australia (2008)

8) Takehiro Ohta, Yohsuke Hagiwara, and Masaru Tateno. Electronic state of blue Cu protein revealed by using QM/MM calculations, World association of theoretical and computational chemists. Sydney, Australia (2008).

9) Sundaram Arulmozhiraja, Yohsuke Hagiwara, Masaru Tateno, and Takahisa Ohno. Structural modelling, docking, and QM/MM study of ligand-binding upon human AhR. World association of theoretical and computational chemists. Sydney, Australia (2008).

10) Tatsunori Nishimura, Thomas Maiwald, Jens Timmer and Masaru Tateno. Computer simulation and theoretical formulation of stimulus/response relationships of

intracellular signaling network cascades. 日本生物物理学会第 46 回年会, 福岡, 2008 年 12 月.

11) Sundaram Arulmozhiraja, Yohsuke Hagiwara, Masaru Tateno, and Takahisa Ohno. Structural modelling, docking, and QM/MM study of ligand-binding upon human AhR. 日本生物物理学会第 46 回年会, 福岡, 2008 年 12 月.

12) JiYoung Kang, Takehiro Ohta, Yohsuke Hagiwara, Keigo Nishikawa, Tetsunori Yamamoto, Hidemi Nagao, and Masaru Tateno. 金属蛋白質の QM/MM 計算における遠距離静電相互作用の影響. 日本生物物理学会第 46 回年会, 福岡, 2008 年 12 月.

13) Shigehide Kuroyanagi, Yohsuke Hagiwara, Masaru Tateno. 分子動力学計算により明らかになった GatCAB におけるアンモニアを輸送する新しいチャネル. 日本生物物理学会第 46 回年会, 福岡, 2008 年 12 月.

14) Yohsuke Hagiwara, Osamu Nureki, and Masaru Tateno. 分子ドッキングおよび QM/MM 分子動力学シミュレーションによる酵素反応機構の理論的解析. 日本生物物理学会第 46 回年会, 福岡, 2008 年 12 月.

15) Masaru Tateno and Yohsuke Hagiwara. 高速かつ高精度な van der Waals 相互作用計算スキームを含む QM/MM-MD 計算プログラムの開発. 日本生物物理学会第 46 回年会, 福岡, 2008 年 12 月.

16) Shigehide Kuroyanagi, Yohsuke Hagiwara, Masaru Tateno, Novel channel of glutamine amidotransferase CAB for ammonia transport revealed by molecular dynamics simulations. 第 31 回日本分子生物学会年会 第 81 回日本生化学大会合同大会, 神戸, 2008 年 12 月.

17) Jiyoung Kang, Takehiro Ohta, Yohsuke Hagiwara, Keigo Nishikawa, Tetsunori Yamamoto, Hidemi Nagao, and Masaru Tateno. 金属結合タンパク質の活性部位に対する遠距離静電相互作用が与える影響に関する計算科学的解析. 第 31 回日本分子生物学会年会 第 81 回日本生化学大会合同大会, 神戸, 2008 年 12 月.

18) Tatsunori Nishimura, Thomas Maiwald, Jens Timmer and Masaru Tateno. Novel mathematical formulation to describe steady state reactions in intracellular signaling network cascade. 第 31 回日本分子生物学会年会 第 81 回日本生化学大会合同大会, 神戸,

2008 年 12 月.

19) Yohsuke Hagiwara, Osamu Nureki, and Masaru Tateno. Computational analyses of enzymatic reaction mechanism by molecular docking and QM/MM-MD simulations. 第 31 回日本分子生物学会年会 第 81 回日本生化学大会合同大会, 神戸, 2008 年 12 月.

20) Masaru Tateno and Yohsuke Hagiwara. Development of QM/MM molecular dynamics program including an accurate and effective description of van der Waals interactions. 第 31 回日本分子生物学会年会 第 81 回日本生化学大会合同大会, 神戸, 2008 年 12 月.

21) Yohsuke Hagiwara and Masaru Tateno. Computational study of signal propagation in the complex of *Thermus thermophilus* leucyl-tRNA synthetase (LeuRS) and its cognate tRNA. Biophysical Society 53rd Annual meeting. Boston, US (2009).

22) Masaru Tateno, Osamu Nureki, and Yohsuke Hagiwara. Reaction Mechanisms of Editing (Proofreading) by Leucyl-tRNA Synthetase Revealed by QM/MM Molecular Dynamics Simulations. Biophysical Society 53rd Annual meeting. Boston, US (2009).

(3) その他の発表

1) プレスリリース

2009 年 1 月

生命のしくみを電子のレベルで解明するために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 —

日経産業 (全国版), 日経 BP オンライン版, 茨城新聞など

学内サイト <http://www.tsukuba.ac.jp/public/pressreport.html>

2) TARA News, No. 37 (Jan 2009), 12-17.

舘野 賢 「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」

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