

# 学位論文要旨

## Computational Analysis of Molecular Dynamics in Biomolecular Systems Including Nucleic Acids

(分子動力学計算を用いた核酸を含む生体分子系の解析)

氏名 亀田 健

ヒトゲノムの解読・決定が行われた現在では、遺伝子領域以外の様々な塩基配列パターンに基づいた固有の役割（遺伝子発現制御など）が、DNA に関する研究において注目を集めている。これらの領域の役割に関しては、いわゆる生物学的な実験研究に加え、核酸の配列依存的物性に着目した、物理化学的側面からの研究も行われてきた。その結果、特定の塩基配列とその認識蛋白分子の存在などが解明されている。核酸の物性の重要性は、構造生物学を始めとした生命科学系の分野において、徐々に認知されつつある。

一方で、核酸の物性は塩基配列に複雑に依存するため、統一的な物性の解析が困難である。特に生体分子動態を、原子レベルに近い解像度で解析するには、実験的手法ではどうしても困難が生じる。そのため、蛋白質構造・動態に関する研究では、分子シミュレーションを代表とする計算科学的手法が、その困難を打開する解決策として用いられ、現在までに多数成果を挙げてきた。しかしながら、蛋白質と核酸の物理化学的性質の違いから、これらの計算科学的手法の直接的な応用には幾つかの困難が生じる。

そこで本研究では、これまであまり行われてこなかった核酸を含む分子系に関する分子動力学計算を行い、その有効性、及び発展性について議論した<sup>[1,2]</sup>。またそれらの結果だけでなく、今後類似した分子系に対しても応用できる可能性と、発展させるべき点についても議論した。以下に、対象とした分子系に関する情報を交えて、詳細を述べる。

### ・メチル化パターンに依存した DNA 動態の解析

塩基配列依存的な DNA の動態は、紐状の高分子としての「マクロな柔軟性」と、塩基対レベルの「ミクロな構造変形」の双方に現れることが示されている。また、DNA は生化学的シグナルとして、様々な化学修飾を受ける。この化学修飾の中でも、特に有名なメチル化と DNA 動態の関連性は以前より議論がなされ、マクロな物性変化は実験的に計測されていた。一方で、原子レベルではあまり詳細に議論されていなかった。

そこで本テーマでは、実際にメチル化修飾を与えた DNA の動態を、分子動力学計算を用いて解析した<sup>[1]</sup>。メチル化の与え方に一定の規則を与え、統計の算出を容易にすることで、メチル化サイトとその塩基対レベルでの動態変化の依存性を詳細に評価した。

研究の結果、メチル化による DNA 動態の変化（硬質化）は、メチル基と近接ヌクレオチドとの物理的接触頻度に由来する、塩基対間の構造自由度の束縛に起因することが示された<sup>[1]</sup>。特にその構造自由度には、束縛による変化の仕方が数種類存在することが示された。本研究で得られた原子レベルの動態変化に関する情報は、化学修飾依存的な分子認識の基盤知識となると期待される。

・ RNA の局所的な塩基配列の相補性・相違性に依存する結合動態の解析

RNA の相補的な結合安定性は、リボソーム翻訳開始複合体において、翻訳開始コドン (AUG) の、その相補的なアンチコドン (CAU) を持つメチオニンの tRNA による認識の基盤を成す。この RNA の相補的結合安定性と、リボソーム内に属する調節因子群により、正確な AUG の認識が保証される。しかしその反面、AUG 以外の開始コドンの存在も以前より確認されていた。特に真核生物では、AUG 以外にも CUG による特殊な翻訳開始の例が報告されており、この開始可能性は、認識される RNA の塩基依存的な核酸間の結合動態・相対的安定性が重要であるとの予想がされてきた。

そこで本テーマでは、実際に翻訳開始複合体内の mRNA と tRNA のコドン・アンチコドンの結合動態を、分子動力学計算を基に評価した。手法としては、履歴依存的に自由エネルギー分布を計算する推定法である ABF (Adaptive Biasing Force) 法を用い、コドン・アンチコドンの 3 塩基間の距離を反応座標とする多次元自由エネルギー地形を計算した。この分布から非結合・結合状態間の自由エネルギー差や、その結合経路と、それらの塩基 (コドン) 依存性 (AUG と CUG など) を評価した。

長時間の ABF による計算から推定された自由エネルギー地形には、定性的に実験結果 (コドンの種類と翻訳開始可能性) との整合性が確認された。その自由エネルギー地形を基とした結合・解離経路の推定により、コドン・アンチコドン間の塩基組成と塩基置換の箇所に依存して生じる結合安定性変化の機構が、動力的視点から示された。本研究の手法は、RNA の塩基対間の親和性が開始コドン認識を担うという従来の説を物理化学的に示唆するものであり、今後特殊な化学修飾を含む開始コドンの結合性などを議論する際にも有効な計算方法であると考えている。

・ 中間体ヌクレオソーム動態における、DNA の動態変化の検出法の検討

ヌクレオソームは真核生物のクロマチンの基本構成単位であり、その構造は DNA とヒストン蛋白質が静電相互作用で密接に結合した複合体である。この構造はクロマチン構造をコンパクト化させる反面、他の DNA 結合蛋白質と DNA との相互作用においては、その物理的障害となる。その障害としての性質を弱めるべく、ヌクレオソーム構造からヒストンを選択的に取り除いた、(構造調節過程という意味での) 中間体ヌクレオソーム構造を経た構造調節が行われることが実験的に確認されていた。

本テーマではこの中間体ヌクレオソームの動態を計算機上で計測し、その動態から推測される選択的構造調節の意義について考察した。長時間のヌクレオソームモデルの動態から、DNA の運動性を統計的に評価し、中間体ヌクレオソームにおける DNA 動態・構造遷移の特徴を検出した。この特徴は消失させるヒストンの違いにより、可逆性・不可逆性の相違が推定される結果となった<sup>[2]</sup>。

本研究結果により、構造調節過程における中間体生成経路の妥当性が示された。本研究で用いた構造遷移を統計的に算出する手法は、他の核酸・蛋白質の密接な相互作用からなる複雑な分子系の動態からの、有効な構造遷移の検出への応用が期待される。

[1] Kameda T. et al., (2021) *Phys. Rev. E*. **103**, 012404.

[2] Kameda T. et al., (2019) *Front. Mol. Biosci.* **6**, 133.