

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)	氏名	亀田 健
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 ①・② 項該当		
論文題目			
<p>Computational Analysis of Molecular Dynamics in Biomolecular Systems Including Nucleic Acids</p> <p>(分子動力学計算を用いた核酸を含む生体分子系の解析)</p>			
論文審査担当者			
主 査	准教授	富樫 祐一	
審査委員	教 授	楯 真一	
審査委員	教 授	山本 卓	
審査委員	教 授	李 聖林	
審査委員	准教授	粟津 暁紀	
〔論文審査の要旨〕			
<p>核酸は、ゲノム DNA に代表されるように、生物において遺伝情報を保持・伝達・処理する重要な分子である。複製、転写、翻訳など、生体内で核酸の関わる諸過程は、分子の結合解離と化学反応に依拠する。それゆえ、核酸の物理的性質がその様相に影響を与えることが想定される。これまで実験的に示されてきたように、塩基配列の違いや化学修飾、また結合したタンパクなどの分子の違いが、核酸の物理的性質に影響を与える。一方で、こうした影響をもたらす微視的な構造・動態の変化を実験で示すことは困難であるため、シミュレーションによる解析が期待される。しかしながら、これまで、タンパクの分子構造動態に対するシミュレーション研究の隆盛に比して、核酸やそれを含む分子複合体に関する研究は限られていた。</p> <p>本論文は、このような核酸を含む生体分子系の力学特性や構造動態に対する、分子動力学計算を用いた解析に関するものである。モデル構築やシミュレーション、解析のための複数の手法と、それらを用いた結果が論じられている。特に、上記のような塩基配列の違いや修飾、結合状態変化に注目し、それらが構造動態に与える影響を評価する手法を提案するとともに、具体例を用いて検証している。</p> <p>主論文は全 7 章からなり、第 2～4 章の各章でそれぞれ具体的な系に対する手法と解析結果が述べられる。</p> <p>まず、第 2 章では、最も単純な場合として、DNA 2 重鎖の構造動態が対象とされる。DNA は様々な化学修飾を受けることが知られているが、その代表例ともいえるメチル化は、いわゆる CpG アイランドのメチル化による遺伝子発現抑制など、エピジェネティクスに関与している。一方で、メチル化により DNA の力学特性が変化することが示されており、メチル化による遺伝子発現制御が力学特性に依存している可能性も示唆される。しかし、メチル化の程度や空間的分布と力学特性との関係は、体系的に示されてはいなかった。そこで本研究では、CpG 反復配列に対してパターン状にメチル化を導入した DNA 2 重鎖モデルを用いて構造変化をサンプリングし、周期性に注目して統計処理を行うことにより、</p>			

微視的な力学特性（ずれやねじれ等に対する柔軟性）の変化を詳細に解析した。その結果、メチル化部位との相対的な位置関係に依存した局所的な動態変化が生ずること、またそれがメチル基と近接ヌクレオチドとの接触によることが示された。

第3章では、分子複合体中における RNA 鎖間の相互作用が議論される。翻訳の場であるリボソームにおいて、mRNA の塩基配列とアミノ酸との対応は、mRNA 中のコドンと tRNA 中のアンチコドンとの対応、すなわち2本の RNA 鎖間での相互作用に依存している。翻訳開始コドンは真核生物においては一般に AUG であるが、CUG からの翻訳開始といった例外的な場合も知られている。このコドンと開始可能性との対応を考える上では、RNA 鎖間の結合の安定性が焦点となる。本研究では、リボソームの一部を切り出したモデルを用いた分子動力学計算により、AUG、GUG、CUG の各コドンと CAU アンチコドンとの結合構造の安定性を評価した。Adaptive Biasing Force（適応バイアス力）法を用いることにより、対となる塩基（3対）間の距離を反応座標とした自由エネルギー地形を描くことに成功した。結合構造の相対的な安定性は、開始可能性に関する実験結果と定性的に整合していた。自由エネルギー摂動法を用いた先行研究と比較して、本研究の手法には、結合前後の状態での構造を所与のものとする必要がなく、また、結合前後での自由エネルギー差だけでなく結合過程における構造変化も推定できる利点がある。

第4章では、DNA とタンパクとの相互作用が焦点となる。真核生物の核内クロマチン構造の基本単位であるヌクレオソームは、ヒストンタンパク質2量体4つからなる8量体構造の周りに DNA が巻き付いた複合体である。この構造は DNA をコンパクトに格納するのに役立つ一方で、他のタンパク質が DNA と相互作用する際には物理的な障害となる。そのため、転写などの過程においては、少なくとも一部のヒストンが取り除かれることになる。この際、ヒストン2量体のうち H3/H4 のみを失った構造は観測されておらず、H2A/H2B が優先的に取り除かれる選択性があることが知られている。そこで本研究では、H2A/H2B もしくは H3/H4 を1つ取り除いたヌクレオソーム（中間体ヌクレオソーム）のモデルを作成し、ヒストンの欠失による構造動態の変化を解析することにより、中間体ヌクレオソームを経た構造調節における選択性の意義を考察した。いずれの場合も個々のヒストンの構造は保たれる一方で、DNA の構造は欠失したヒストンの周辺で大きく変化した。この構造変化の向きには欠失したヒストンによる違いがみられ、その原因がヒストンのテール領域と DNA との相互作用によることが示された。

なお、主論文第2章と第4章の内容は、それぞれ公表論文として出版済である。第3章の内容についても公表準備を進めている。

本論文を通じて、著者の亀田氏は、核酸やそれを含む複合体の特性の解析に分子動力学計算を有効に用いる手法を提案し、具体例に基づいて実証することに成功している。これらの手法は原理としては独自ではないものの、既存手法の組み合わせと改良によりその応用範囲を広げるものということができる。また、個々の具体例に対して得られた結果にも、類似の手法を用いた先行研究に対する新規性・優位性が認められる。解析結果の妥当性と生物学的意義は今後の実験等によりさらに検証される必要があるものの、現時点までの成果は、核酸を含む系の生物物理学に対する着実な貢献として認められるべきものである。

以上、審査の結果、本論文の著者は博士（理学）の学位を授与される十分な資格があるものと認める。

公表論文

1. Takeru Kameda, Akinori Awazu, Yuichi Togashi, “Histone Tail Dynamics in Partially Disassembled Nucleosomes During Chromatin Remodeling”, *Frontiers in Molecular Biosciences* 6, 133 (2019).
2. Takeru Kameda, Miho M. Suzuki, Akinori Awazu, Yuichi Togashi, “Structural Dynamics of DNA Depending on Methylation Pattern”, *Physical Review E* 103, 012404 (2021).

参考論文

1. Takeru Kameda, Shuhei Isami, Yuichi Togashi, Hiraku Nishimori, Naoaki Sakamoto, Akinori Awazu, “The 1-Particle-per-k-Nucleotides (1PkN) Elastic Network Model of DNA Dynamics with Sequence-Dependent Geometry”, *Frontiers in Physiology* 8, 103 (2017).
2. 亀田健, 栗津暁紀, 富樫祐一, 「過渡的に生じる中間体ヌクレオソームにおけるヒストンテール動態の解析」, *生物物理* 60, 288-290 (2020).