

IV. 生命科学研究部門

生命科学部門は生命機能情報分野、および、分子進化分野の 2 つの研究分野からなり、それぞれ、第一原理計算に基づく原子レベルでの酵素や DNA の機能解析、真核生物系統間の遺伝情報系統解析を独立に行ってきました。26 年 2 月に行われた外部評価において生命科学部門 2 分野の共同研究についてのコメントを受け、また、3 月には研究部門の部門長である教授の着任に伴い、25 年度の終わりから共同研究体制の構築を試みている。

以下では、それぞれの部門の業績を個別に示す。

IV-1. 生命機能情報分野

1. メンバー

教授	重田 育照 (センター勤務、物理学系、平成 26 年 3 月着任)
助教	庄司 光男 (センター勤務、物理学系)
学生	大学院生 3 名、学類生 1 名

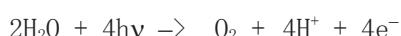
2. 概要

生命機能情報分野では、生体内で重要な働きをしている蛋白質と核酸に注目し、その原子レベルでの特異的機能を理論的に解明することを目的としている。平成 25 年度には、[1]光合成酸素発生中心(PSII-OEC)、および、[2]トレオニン合成酵素(TS)における特異的反応機構を生み出す分子メカニズムの解明を、高精度計算手法である量子/古典混合(QM/MM)法により行った。また、全原子分子動力学(MD)法により、[3]トレオニン合成酵素のプロトン化状態、[4]核内受容体の基質結合状態、[5]ウリジンシチジンキナーゼの基質認識機構の解明を行った。これらの研究には膨大な計算を高速に実行する必要があるため、スーパーコンピューターの効率的利用に取り組み、国内のスーパーコンピュータ(T2K-Tsukuba, HA-PACS, 東大 FX10)を活用した。センター内の共同研究として、宇宙理論分野と連携し、[6]系外惑星のバイオマーカーおよびアミノ酸生成過程に関する理論的研究を推進した。

3. 研究成果

【1】 光合成酸素発生中心の電子状態についての理論的研究

光合成は光エネルギーを化学エネルギーに変換するシステムであり、生命にとって極めて重要なシステムの 1 つである。光合成は蛋白質複合体の集合体で構成されており、各複合体は光捕集、電子伝達、ATP 生成と糖生成（酸素固定反応）の働きを担っている。電子伝達系では重要な化学反応として光合成システム II における酸素発生中心(PSII-OEC)をもち、水の分解反応を行っている。



この反応では水から電子を引き抜いているが、一般的に本反応は極めて難しい化学反応である。2011 年に沈教授（岡大）、神谷教授（大阪市大）により原子分解能(1.9Å)の X 線構造解析がなされ、初めて活性中心構造とその周りの水分子の立体的配置が明らかとなった。OEC の活性中心は CaMn_4O_5 クラスターが歪んだ椅子型構造になっている。

我々は OEC の反応機構を解明する為、大規模量子古典混合法(QM/MM)法を用いて検討を行った。初期の中間状態における OEC 構造と電荷状態について理論解析を行った。X 線構造解析で決定されないプロトン化状態に関して、すべての可能な電荷、 спин、プロトン化状態を検証し、PSII-OEC の構造特性を明らかにした。

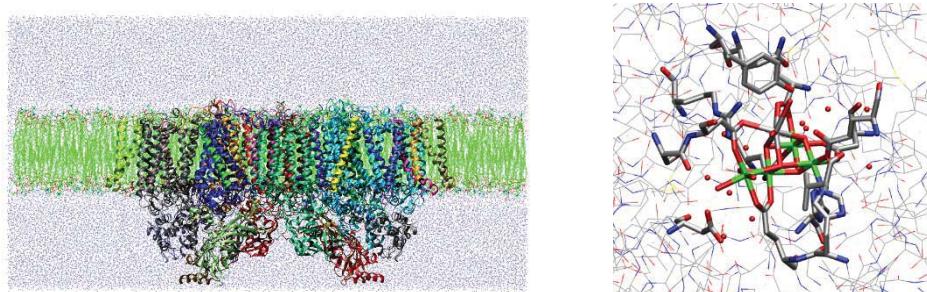


図 1. 光合成システム II(左図)と水分解サイト(右図)

【2】 トレオニン合成酵素の特異的反応機構の理論的解明

生体酵素における反応機構と反応制御機構（副反応の抑制機構）は、化学合成における究極のテーマといつても過言でないほど重要である。トレオニン合成酵素(TS)はトレオニン生合成の最終ステップである O-phospho-L-homoserine(OPHS)から L-トレオニンを生成する段階を触媒しており、いくつもの副生成物(α -ケトブチラート、ケトン)の生成を制御している。しかしながら未だ TS の反応制御機構は明らかにされておらず、その本質の解明のためには基質・酵素複合体で各反応経路における構造変化とエネルギープロファイルを明らかにすることが不可欠である。

そこで、反応特異性に関わる反応過程に対して QM/MM 計算を行い、プロトン化状態と活性中心における水の存在の検証、可能な反応経路を網羅的に探索した。その結果、自由エネルギーが実験値と 3 kcal/mol 以内で一致し、中間体の UV スペクトル形状も完全に実験と一致した。これにより、反応制御因子を明らかにするとともに各中間体の構造特性も初めて明らかにした。研究成果は国際論文誌に掲載され、プレスリリースを行った。

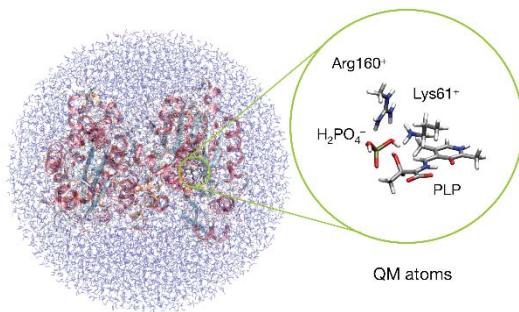


図 2. トレオニン合成酵素の QM/MM モデル: (左)全系, (右)QM 領域

【3】 トレオニン合成酵素の基質結合状態解析

トレオニン合成酵素における重要な反応中間体について、長時間 MD シミュレーションを行うことで、基質結合相互作用解析と基質のプロトン化状態を明らかにした。また、反応過程における活性中心への水分子の侵入についても理論解析を行った。今後は反応制御に関わる中間体における自由エネルギー評価を熱力学積分法により精密に算出することで、酵素反応特有の反応制御機構の解明を試みている。

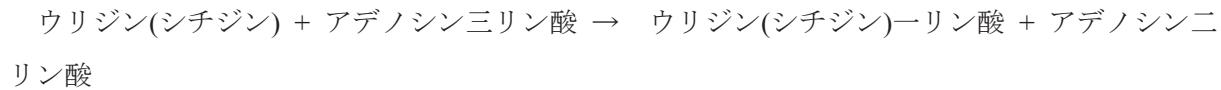
【4】 ビタミン D 受容体の活性制御機構の解明

ビタミン D 受容体 (VDR) は核内受容体 (NR) の一つである。NR は重要な創薬標的であり、NR 標的薬は NR のヘリックス 12 を活性構造化あるいは不活性構造化することによって、NR が関わる細胞応答を調節する。これまで NR の構造は、X 線結晶解析に基づいて理解されてきたが、近年、溶液中のコンフォメーションアンサンブル（可能な構造の集合）が受容体活性の制御に関係することが実験から示唆されている。しかし、ヘリックス 12 のコンフォメーションアンサンブルの実態は明らかではない。一方で、NR は極めて重要な創薬標的であるため、薬剤による NR 活性調節機構について多くの計算科学的解析が行われてきたが、NR コンフォメーションアンサンブルの計算モデルは未だ提案されていない。そこで、天然作動薬（受容体を活性化する小分子）結合時の VDR のコンフォメーションアンサンブルを明らかにするために、蛋白質折りたたみ過程の自由エネルギープロファイルの計算などに使われるレプリカ交換分子動力学(REMD)法による大規模構造探索を行った。

計算によって得られた最安定構造は結晶構造と良く一致する活性構造であった。一方で僅かな自由エネルギー差でヘリックス 12 が大きく構造変化（不活性化）した複数の準安定構造を取りうることが分かった。これらの準安定構造の一部は、糖質コルチコイド受容体の不活性構造と良く似た構造を取っていた。また、結晶とは異なる準安定において、作動薬結合ポケットを発見し、作動薬結合様式とヘリックス 12 構造の関係を明らかにした。それにより、リガンド特異的な VDR 活性制御機構を提案した。

【5】 ウリジンシチジンキナーゼの基質特異性についての理論解明

ウリジンシチジンキナーゼ(uridine-cytidine kinase : UCK)は生体内でエネルギー源や DNA、RNA の材料となる物質をリサイクルする経路で作用し、以下のようにウリジンとシチジンのリン酸化を触媒する。



この反応は腫瘍細胞の成長を抑制する働きも有することから UCK は抗がん剤のターゲットとなっている。UCK では初めにヒト由来のものの結晶構造が解かれたが、高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 に由来する UCK(*Thermus thermophilus* UCK : ttCK)は、基質結合部位にヒト由来 UCK とは異なるアミノ酸残基を 1 つ持ち、ウリジンには作用しないという基質特異性を持っている。この残基をヒト由来 UCK が持つものと同じ残基に置換した変異体 ttCK ではウリジンにも作用することが明らかとなっている。しかしながら ttCK の残基認識がどのようになされているかの分子レベルでの機構が不明であり、1 残基の変化だけで基質認識が大きく変わる理由は結晶構造からでは明らかでない。そこで、MD 法により実際に ttCK と基質の複合体をシミュレーションすることで、正確な相互作用のエネルギーを算出した。また、野生型および変異体の ttCK と基質であるウリジン、シチジンとの複合体との比較をすることで、ttCK の基質認識機構を明らかにした。

【6】 宇宙生命計算（宇宙物理分野との共同研究）

近年、系外惑星の発見が多く報告されてきている。ハビタブルゾーン内の惑星観測が成功し、地球に類似した惑星の発見もなされている。それに伴い、惑星のスペクトルから生命の痕跡（バイオマーカー）をいかに検出するかも非常に注目がなされている。バイオマーカーには様々な指標が提案されているが、red edge は、植物の反射スペクトル由来の近赤外領域（700-750nm）に見られる特徴的な急勾配である。この勾配の由来は様々なスケールでの要因が関わっているが、主要な要因としては光合成色素の 1 つであるクロロフィルの吸収スペクトルがある。

系外惑星における生命指標の可変性を明らかにするためには、地球における red edge 相当のスペクトルの環境依存性を明らかにすることが極めて重要と考えられる。まず始めに、主要な光合成色素の励起スペクトル計算を行い、系外惑星における植物の光吸収効率について考察をおこなった。また、光捕集システムの仕組み解明とその可変性について、光合成システムモデルを構築し、量子力学計算により理論的検討をおこなった。

宇宙でのアミノ酸生成過程については様々な反応経路が考えられている。我々は、一般的な生成過程に対して反応物及び中間体の生成エネルギーの安定性を評価することで、宇宙におけるアミノ酸生成の仕組みの解明を試みた。ヒダントインやアミノニトリルを経由する、グリシン及びアラニンの生成過程について、高精度第一原理計算(密度汎関数法)により検討することで、構成要素なる反応物があればグリシン、アラニン生成は容易に起こりうることが明らかになった。

4. 教育

【学位論文】

<博士論文>

1. 花岡恭平

Theoretical elucidations on the activity modulation mechanism of vitamin D receptor and the DNA relegation mechanism of DNA topoisomerase II(ビタミンD受容体の活性制御機構とII型DNAトポイソメラーゼのDNA再結合反応機構に対する計算科学的解明)

<卒業研究>

1. 坂本浩隆

葉緑体チラコイド膜の構築

【講義】

1. 庄司光男

- ・「生物物理科学」(物理学類専門科目、春 ABC)
- ・「計算科学リテラシー」(数理・シス情修士学生対象、1 コマ担当、2014/3/18-19)
- ・「基礎計算生物学」(ヒューマンバイオロジー、2 コマ担当、2013/11/28, 12/5)
- ・「生体内化学反応の理論解明」(物理学セミナー、2013/11/13)

5. 受賞、外部資金、知的財産権等

- 1) 【受賞】(賞の名称、受賞者名、タイトル、年月日)

① 研究科長賞 (筑波大学数理物質科学研究科)、花岡恭平、2014 年 3 月

- 2) 【外部資金】(名称、氏名、代表・分担の別、採択年度、金額、課題名)

<代表者>

- ・若手研究 B : 庄司光男 (代表者) (平成 24 年度採択、継続)

「生体酵素における反応機構と反応制御機構解明のための理論的研究」

<分担者>

- ・特別推進研究 : 庄司光男 (分担者) (代表者: 沈建仁) (平成 24 年採択、継続)

「光合成系 II における水分解反応の学理解明」

6. 研究業績

(1) 研究論文

- A) 査読付き論文
1. M. Shoji, K. Hanaoka, Y. Ujiie, W. Tanaka, D. Kondo, H. Umeda, Y. Kamoshida, M. Kayanuma, K. Kamiya, K. Shiraishi, Y. Machida, T. Murakawa, H. Hayashi, "A QM/MM Study of the l-Threonine Formation Reaction of Threonine Synthase: Implications into the Mechanism of the Reaction Specificity", *J. Am. Chem. Soc.*, **136** (12), 4525-4533, 2014.
 2. K. Hanaoka, M. Shoji, D. Kondo, A. Sato, M. Y. Yang, K. Kamiya, K. Shiraishi, "Substrate mediated proton relay mechanism for the religation reaction in topoisomerase II", *J. Biomol. Struct. Dyn.*, DOI:10.1080/07391102.2013.834848, 2013.
 3. M. Shoji, K. Hanaoka, D. Kondo, A. Sato, H. Umeda, K. Kamiya, K. Shiraishi, "A QM/MM study of nitric oxide reductase-catalyzed N₂O formation", *Mol. Phys.*, **112**(3-4), 393-397, 2013.
 4. M. Shoji, K. Hanaoka, A. Sato, D. Kondo, M. Yang, K. Kamiya, K. Shiraishi, "Calculation of the Electron Transfer Coupling Matrix Element in Diabatic Reactions", *Int. J. Quantum Chem.*, **113**, 342-347, 2013.
 5. K. Yamaguchi, M. Shoji, H. Isobe, Y. Kitagawa, S. Yamada, T. Kawakami, S. Yamanaka, M. Okumura, "Theory of chemical bonds in metalloenzymes XVI. Oxygen activation by high-valent transition metal ions in native and artificial systems", *Polyhedron*, **66**, 228-244, 2013.
 6. M. Shoji, H. Isobe, S. Yamanaka, Y. Umena, K. Kawakami, N. Kamiya, J.-R. Shen and K. Yamaguchi, "Theoretical insight in to hydrogen-bonding networks and proton wire for the CaMn₄O₅ cluster of photosystem II. Elongation of Mn-Mn distances with hydrogen bonds", *Catal. Sci. Technol.*, **3**, 1831-1848, 2013.
 7. K. Yamaguchi, Y. Kitagawa, H. Isobe, M. Shoji, S. Yamanaka, M. Okumura, "Theory of chemical bonds in metalloenzymes XVIII. Importance of mixed-valence configurations for Mn₅O₅, CaMn₄O₅ and Ca₂Mn₃O₅ clusters revealed by UB3LYP computations. A bio-inspired strategy for artificial photosynthesis", *Polyhedron*, **57**, 138-149, 2013.
 8. K. Yamaguchi, S. Yamanaka, H. Isobe, T. Saito, K. Kanda, Y. Umena, K. Kawakami, J.-R. Shen, N. Kamiya, M. Okumura, H. Nakamura, M. Shoji, Y. Yoshioka, "The nature of chemical bonds of the CaMn₄O₅ cluster in oxygen evolving complex of photosystem II: Jahn-Teller distortion and its suppression by Ca doping in cubane structures", *Int. J. Quantum. Chem.*, **113**, 453-473, 2013.

(2) 国際会議発表

- A) 招待講演

1. ○M. Shoji, "QM/MM study on the photosystem II oxygen evolving complex at the S₁ state", The 51st Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Kyoto, 2013/10/28-30.
2. ○M. Shoji, H. Isobe, S. Yamanaka, N. Kamiya, J.-R. Shen, K. Yamaguchi, "Theoretical investigation on the electronic structures of photosystem II oxygen evolving complex at the S₂ state", 1st Awaji International Workshop on "Electron Spin Science & Technology: Biological and Materials Science Oriented Applications" (1st AWEST2013), Awaji, 2013/6/16.
3. ○M. Shoji, K. Hanaoka, Y. Ujiie, W. Tanaka, M. Kayanuma, H. Umeda, Y. Machida, T. Murakawa, H. Hayashi, "A QM/MM Study on the Reaction Mechanism of Threonine Synthase", BIT's 4th Symposium on Enzymes and Biocatalysis 2013 (SEB-2013), Nanjing, China, 2013/4/26.

B) 一般講演

1. M. Taguchi, Y. Komatsu, A. Sato, ○M. Shoji, M. Kayanuma, K. Kamiya, K. Shiraishi, K. Yabana, and M. Umemura, "Theoretical investigation on the absorption spectrum of photosystem as a biomarker of extrasolar plants", ISTCP-8, Budapest, Hungary, 2013/8/25, poster.
2. ○W. Tanaka, Y. Ujiie, K. Hanaoka, M. Shoji, M. Kayanuma, K. Kamiya, T. Ishida, F. Tomoike, S. Kuramitsu, K. Shiraishi, "Theoretical Investigation on the Substrate Specificity of Uridine-cytidine Kinase", ISTCP-8, Budapest, Hungary, 2013/8/25, poster.
3. ○Y. Ujiie, W. Tanaka, K. Hanaoka, M. Shoji, M. Kayanuma, K. Kamiya, T. Ishida, K. Shiraishi, Y. Machida, T. Murakawa, H. Hayashi, "Molecular dynamics study on the substrate binding free energy of Threonine Synthase", ISTCP-8, Budapest, Hungary, 2013/8/25, poster
4. ○M. Shoji, H. Isobe, S. Yamanaka, N. Kamiya, J.-R. Shen, K. Yamaguchi, "QM/MM study on the photosystem II oxygen evolving complex at the S₁ state", The 16th International Congress on Photosynthesis Research, St. Louis(MO), 2013/8/11, poster.
5. ○Y. Komatsu, M. Umemura, M. Shoji, K. Yabana, K. Shiraishi, K. Kamiya, M. Kayanuma, A. Sato, "The energy transfer simulation for detecting photosynthetic biosignatures on extrasolar planets", 1st AWEST2013, Awaji, 2013/6/16, poster.
6. ○M. Kayanuma, K. Hanaoka, M. Shoji, "Theoretical Study on Catalytic Mechanism of Nitrile Hydratase", The 51st Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Kyoto, 2013/10/28-30, poster.
7. ○M. Shoji, K. Hanaoka, Y. Ujiie, W. Tanaka, M. Kayanuma, H. Umeda, Y. Machida, T. Murakawa, H. Hayashi, "Theoretical elucidation on the reaction control mechanism in Threonine Synthase", The 51st Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Kyoto, 2013/10/28-30, poster.

(3) 国内学会・研究会発表

A) 招待講演

1. ○庄司光男、「QM/MM 法による光合成酸素発生中心の電子状態と構造」、異分野融合による新材料開発のための計算科学、RIKEN AICS、2014/3/8、口頭.
2. ○庄司光男、「QM/MM 法による光合成酸素発生中心 S₁ 状態の電子状態解析」、第 2 回公開シンポジウム人工光合成特別セッション、立命館大学、2013/10/28、口頭.
3. ○庄司光男、花岡恭平、氏家謙、田中弥、梅田宏明、栢沼愛、神谷克政、白石賢二、町田康博、村川武志、林秀行、「トレオニン合成酵素における反応特異性決定過程の理論解明」、蛋白質科学会年会、鳥取、2013/6/13、口頭 および ポスター発表.

B) その他の発表

1. ○庄司光男、磯辺寛、山中秀介、沈建仁、山口兆、「大規模 QM/MM 法による光合成酸素発生中心の電子状態」、日本化学会春年会 2014、名古屋大学、2014/3/27-30、口頭.
2. ○庄司光男、氏家謙、田中弥、栢沼愛、梅田宏明、町田康博、村川武志、林秀行、「トレオニン合成酵素の反応機構についての理論的研究: 反応特異性決定過程の解明」、日本化学会春年会 2014、名古屋大学、2014/3/27-30、口頭.
3. ○栢沼愛、花岡恭平、庄司光男、「ニトリルヒドラターゼの触媒機構に関する理論的研究」、日本化学会春年会 2014、名古屋大学、2014/3/27-30、ポスター.
4. ○花岡恭平、庄司光男、栢沼愛、白石賢二、「ビタミン D 受容体におけるコンフォメーションアンサンブル: 分子動力学法による解明」、第 36 回日本分子生物学会年会、神戸、2013/12/3-6、ポスター.
5. ○花岡恭平、庄司光男、栢沼愛、神谷克政、白石賢二、「ビタミン D 受容体のコンフォメーションアンサンブルと細胞応答」、第 86 回日本生化学会大会、横浜、2013/9/11-12、口頭 + ポスター.
6. ○氏家謙、田中弥、花岡恭平、庄司光男、栢沼愛、神谷克政、白石賢二、町田康博、村川武志、林秀行、「分子動力学法によるトレオニン合成酵素の反応特異性についての理論的解明」、第 86 回日本生化学会大会、横浜、2013/9/11-12、ポスター.
7. ○庄司光男、氏家謙、田中弥、花岡恭平、梅田宏明、栢沼愛、神谷克政、白石賢二、町田康博、村川武志、林秀行、「トレオニン合成酵素における反応特異性についての理論的解明」、第 86 回日本生化学会大会、横浜、2013/9/11-12、口頭 + ポスター.
8. ○田中弥、氏家謙、花岡恭平、庄司光男、栢沼愛、神谷克政、友池史明、倉光成紀、白石賢二、「ウリジンシチジンキナーゼ(ttCK)の基質認識機構についての分子動力学解析」、第 86 回日本生化学会大会、横浜、2013/9/11-12、ポスター.

9. ○氏家謙、田中弥、花岡恭平、庄司光男、栢沼愛、神谷克政、白石賢二、町田康博、村川武志、林秀行、「分子動力学法によるトレオニン合成酵素の基質結合自由エネルギー計算」、蛋白質科学会年会、鳥取、2013/6/13、ポスター.
10. ○田中弥、氏家謙、花岡恭平、友池史明、庄司光男、栢沼愛、神谷克政、倉光成紀、白石賢二、「ウリジンシチジンキナーゼの特異的基質認識機構の理論的解明」、蛋白質科学会年会、鳥取、2013/6/13、ポスター.
11. ○花岡恭平、庄司光男、栢沼愛、神谷克政、白石賢二、「QM/MM 法による HIT スーパーファミリー酵素の触媒機構の解明」、蛋白質科学会年会、鳥取、2013/6/13、ポスター.
12. ○小松勇、梅村雅之、庄司光男、矢花一浩、白石賢二、神谷克政、栢沼愛、田口真彦、佐藤皓允、「太陽系外惑星バイオマーカー検出に向けた光捕集機構のエネルギー転移計算」、Japan Geoscience Union Meeting 2013、幕張メッセ、2013/5/19-24、口頭.
13. 田口真彦、小松勇、佐藤皓允、○庄司光男、栢沼愛、神谷克政、白石賢二、矢花一浩、梅村雅之、「系外惑星のバイオマーカーのための光合成光吸収についての理論的研究」、Japan Geoscience Union Meeting 2013、幕張メッセ、2013/5/19-24、ポスター.
14. ○花岡恭平、「レプリカ交換分子動力学法によるビタミン D 受容体のコンフォメーションアンサンブルの生成」、つくばソフトマター研究会 2014、NIMS, 2014/3/3、口頭.
15. ○庄司光男、「酵素反応機構の理論的解明」、つくばソフトマター研究会 2014、NIMS, 2014/3/3、口頭.
16. ○M. Shoji, "Computational bioscience with supercomputers", Division of Life Sciences, External Review (Reviewer: Andrew Roger), 2014/2/19.
17. ○庄司光男、「生体システムにおける動作原理の理論的解明」、第 5 回「学際計算科学による新たな知の発展・統合・創出」シンポジウム、筑波大学、2013/11/6.
18. ○庄司光男、「トレオニン合成酵素における反応制御機構の理論的解明」、5th JHPCN、品川、2013/7/11.
19. ○M. Shoji, "Computational Bioscience Utilizing Supercomputers: Performance and Applications", CCS-EPCC Workshop, CCS-Tsukuba, 2013/7/4-5.

20. 田口真彦、小松勇、佐藤皓允、木立佳里、○庄司光男、栢沼愛、神谷克政、梅村雅之、矢花一浩、白石賢二、「L-型アミノ酸生成機構とバイオマーカーのための光合成光吸収機構についての理論的研究」、「宇宙生命計算科学連携拠点」ワークショップ、CCS-Tsukuba、2013/6/28-29.

7. 異分野間連携・国際連携・国際活動等

- 1) 宇宙・生命・物性分野間連携（宇宙生命）

宇宙空間での L-アミノ酸生成に関する量子化学計算と系外惑星における光合成光捕集の関係について研究を進展させた。

8. シンポジウム、研究会、スクール等の開催実績

1. 「蛋白質中における金属補欠分子の電子状態制御に関する理論的研究」、講演者：鷹野優、計算生命科学 WG 第 3 回講演会、司会人: 庄司光男、計算科学研究センター会議室 A、2014/3/17.

9. 管理・運営

組織運営や支援業務の委員・役員の実績

- ・ 庄司光男

日本生化学会、協力委員

第 3 回つくば科学研究コンテスト、審査員、2014/3/16

10. 社会貢献・国際貢献

- 1) 「筑波大 スパコンを用いてトレオニン生合成の最終過程を明らかに」、QLife Pro、2014/3/26
2) 「必須アミノ酸"トレオニン"生合成の最終過程が明らかにースーパーコンピュータで網羅的に反応経路を探索」、庄司光男、林秀行、プレスリリース、筑波大学、大阪医科大学、2014/3/14

11. その他

海外長期滞在、フィールドワークなど

なし