

| | |
|---------|--|
| 氏 名 | 大 西 到 |
| 学位の種類 | 博 士（情報工学） |
| 学位記番号 | 情工博甲第347号 |
| 学位授与の日付 | 令和2年 3月25日 |
| 学位授与の条件 | 学位規則第4条第1項該当 |
| 学位論文題目 | 3D-RISM 理論、分子動力学、そして QM/MM メタダイナミクスから導く <i>EcoRV</i> の DNA 切断反応における水分子と Mg^{2+} イオンの役割 |
| 論文審査委員 | 主 査 准教授 入 佐 正 幸 |
| | 教 授 松 山 明 彦 |
| | 〃 高 橋 公 也 |
| | 〃 安 永 卓 生 |
| | 〃 佐 藤 啓 文 |

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

本研究では制限酵素 *EcoRV* による DNA 切断における水分子と Mg^{2+} イオンの役割を、統計力学理論および計算科学手法から導いた。3D-RISM 理論により新たに得られた Mg^{2+} イオンの結合部位に Mg^{2+} イオンを置き分子動力学計算を行い、DNA が構造変化を起こした反応前駆体の構造を得た。さらに DNA 切断を QM/MM メタダイナミクスにより追った。

本研究では酵素活性部位における水分子やイオンの位置あるいは配向を求めるために 3D-RISM/RISM 理論を使用した。3D-RISM/RISM 理論は液体の統計力学に基づき位相空間における配置積分を求める手法である。分子動力学 (MD) シミュレーションも同様に配置積分を求める手法のひとつであるが、MD がニュートン方程式を数値的に積分することによって配置積分を行うのに対して、3D-RISM/RISM 理論ではそれを解析的に行うことに特徴がある。二つの方法の最も本質的な違いは「熱力学極限」を求めているかどうかにある。

熱力学極限は熱力学的平衡系の重要な要請であるが、分子シミュレーションで熱力学極限をとることは計算機の性能上不可能である。一方、3D-RISM/RISM 理論はその極限操作を解析的に行うため、熱力学極限を求める上で何の制約も無い。分子動力学シミュレーションはもうひとつ重要な統計力学的要請であるエルゴード極限も同様の理由で満たすことができない。MD が有するこれらの問題は、酵素反応における基質や補因子の位置を特定する上で決定的な弱点となる。何故なら、活性部位におけるそれらの小分子の配置は熱力学極限およびエルゴード極限の要請を満たすように決定されているからである。例えば、基質分子が活性部位内に結合する際、多くの場合大きな自由エネ

ルギー障壁を乗り越える必要がある。そのような事象はいわゆる「まれに起きる事象(レアイベント)」であり、多くの場合 MD の時間スケール内では実現しない事象である。一方、3D-RISM/RISM 理論はもともと熱力学極限およびエルゴード極限において導出された理論であり、その配置積分にはそのような「稀に起きる事象」も含まれているのである。本研究では、まず、*EcoRV* の活性部位に結合した Mg^{2+} イオンおよび水分子の空間的分布を 3D-RISM/RISM 理論により決定した。その結果、2 個の Mg^{2+} イオンの分布は Kostrewa (1995) や Horton (2004) らによって得られた X 線結晶解析の結果とよく一致したが、それ以外にもうひとつ別の位置 (site IV† と呼ぶ) に顕著な分布を見出した。そこで、一個の Mg^{2+} イオンを site IV† に置いて蛋白質水溶液全体の MD シミュレーションを実行したところ、DNA が構造変化を起こし、DNA の切断に関わる scissile リン酸基が振じれることが分かった。実は site IV† に Mg^{2+} イオンを置いたことによって誘起された活性部位の立体構造は類似蛋白質である BamHI の活性部位のそれと極めて似ている。このことは *EcoRV* と BamHI の構造の違いは実験の「条件」や「精度」の違いというよりむしろ反応の進行に伴う Mg^{2+} イオンや水分子を含む蛋白質-DNA 複合体の構造変化に起因しているということを示唆しているのである。本研究ではさらに得られた構造をもとに加水分解反応に関する量子化学計算を行った。その結果、3D-RISM/RISM 理論で推測した Mg^{2+} イオンの新しい結合位置および求核剤や基質候補として働く水分子が反応機構において本質的役割を演じていることが明らかとなった。

本研究で提案された *EcoRV* による DNA 切断反応機構は、溶媒の Mg^{2+} イオンおよび水分子が重要であることを示しており、採用した理論および計算手法は ATP 分解酵素を含むリン酸エステル結合の加水分解機構を探る上で大変有用であり、生物物理学の研究発展に大きく寄与すると考えられる。

また立体視での分子構造観察機能を持つ研究支援ツールを関数型言語 Scala により作成したことは、大きな意味がある。3D-RISM/RISM 理論計算や分子動力学計算を行うためには、実験精度のため不完全な座標情報を持つ X 線結晶構造と分子が持つ化学結合情報を補完・統合し、物理計算のための入力ファイルを作成する必要がある。情報処理分野での、いくつかの数値に欠けがあるデータや文字列情報を持つデータベースの文字列処理に対応する。Scala 言語は関数型言語としての特徴から、正規表現を含む文字列処理が容易に行える。生体高分子の計算科学のためのツール、A Scala Tool for the Computational Science of Biomolecules (STCSB)、を Linux、MS-Windows、MacOS、そして Android のプラットフォームで動作確認したことは、今回の計算科学研究だけでなく将来の計算科学研究に対する有用な手段を与えたことを意味する。

学位論文審査の結果の要旨

本論文に関し、調査委員から、量子化学計算で得られた 2 つの経路それぞれを通る割合、

および先行研究で提唱されていた反応機構との比較が質問された。さらに、活性部位の構造に影響を与える範囲についてアロステリック効果の観点から質問がなされた。また、計算条件及びサンプリングの程度について質問があり、さらに **STCSB** の動作環境についても質問がなされたが、いずれも著者から満足（明確）な回答が得られた。また、公聴会においても、多数の出席者があり、種々の質問がなされたが、いずれも著者の説明によって質問者の理解が得られた。

以上により、論文調査及び最終試験の結果に基づき、審査委員会において慎重に審査した結果、本論文が、博士（情報工学）の学位に十分値するものであると判断した。