インシリコ解析ユニット

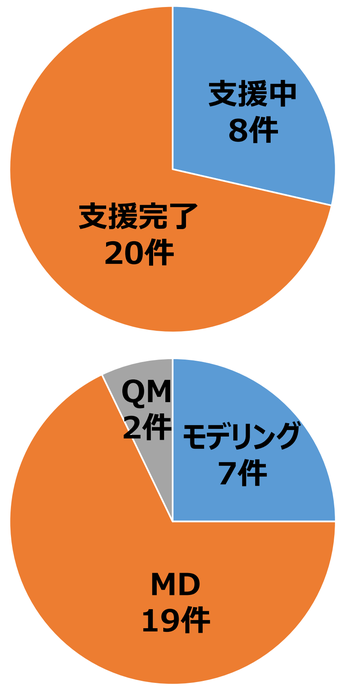
補助事業代表者（所属・職名）
寺田　透（東京大学大学院農学生命科学研究科・教授）

分子シミュレーションによる生体高分子の機能の予測と解析

補助事業分担者（所属・職名）
森脇　由隆（東京科学大学総合研究院難治疾患研究所・准教授）

概要

立体構造予測、複合体モデリング、分子動力学（MD）シミュレーション、量子化学計算（QM）など、様々な分子シミュレーション法を駆使して、タンパク質や核酸など生体高分子の機能を多面的に予測・解析し、実験研究者による生命科学・創薬研究に対する強力な支援を行った。2026年8月末までに28件の支援を行い、うち20件の支援を完了した。右下に、支援において主に用いた手法の内訳を示す。主にモデリングを行う支援を7件、MDシミュレーションを実施する支援を19件、QMを実施する支援を2件行った。MDによる支援には、モデリングやQMを用いた力場パラメータの決定を含む。またQMによる支援には、モデリングやMDシミュレーションによるモデルの精密化を含む。また、支援を完了した課題のうち15件で、支援の成果を論文にまとめ、公表した。支援課題のタイトル、支援依頼者と論文を以下に示す。



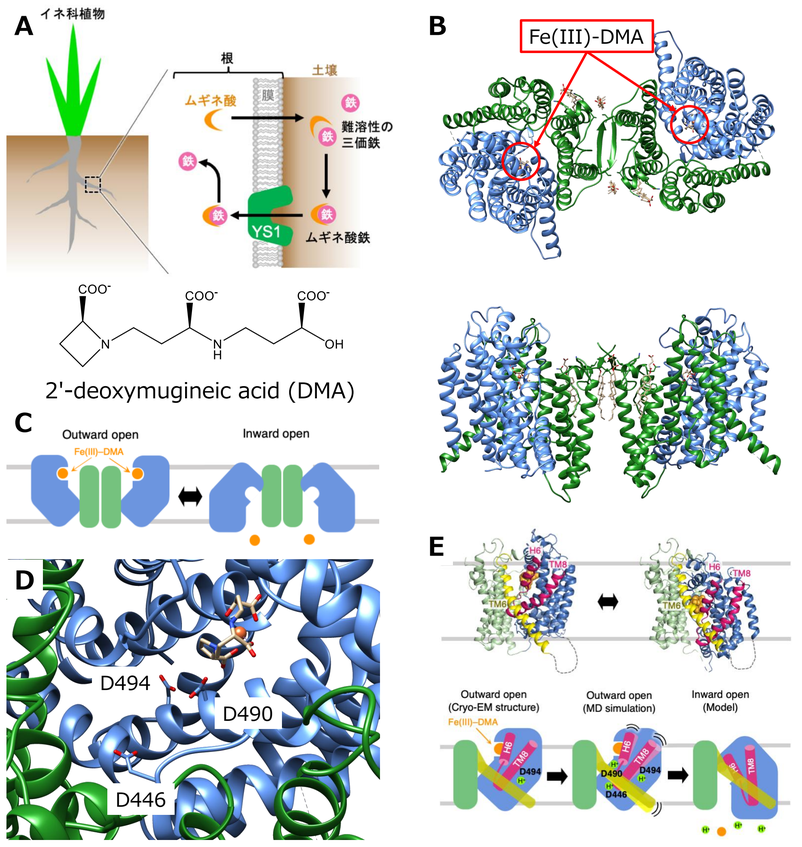
- シロイヌナズナMg^{2+}トランスポーターMRS2-1のGMNモチーフの変異導入解析（東京大学・田野井 慶太朗 教授）
  - Yang *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **86**, 870–874 (2022).
- 鉄錯体輸送体の基質認識と輸送機構の解明（理化学研究所・山形 敦史 上級研究員）
  - Yamagata *et al.*, *Nat. Commun.* **13**, 7180 (2022).
- 化学遺伝学蛍光バイオセンサーの開発（東京大学・寺井 琢也 特任准教授）
  - Zhu *et al.*, *Nat. Chem. Biol.* **19**, 38–44 (2023).
- マウスLAMP2のCドメインの一次構造からの高次構造予測（東京医科歯科大学・横山 三紀 准教授）
  - Terasawa *et al.*, *Protein Sci.* **32**, e4823 (2023).
- メチル基転移酵素の触媒機構の解析（東京大学・葛山 智久 教授）
  - Zhao *et al.*, *Biochemistry*, **63**, 806–814 (2024).
- MDシミュレーションを用いたてんかん原因タンパク質の動的解析とドッキングシミュレーション（理化学研究所・山形 敦史 上級研究員）
  - Yamagata *et al.*, *Nat. Commun.* **15**, 3027 (2024).
- ストリゴラクトン合成酵素の立体選択性制御機構の解析（神戸大学・杉本 幸裕 教授）
  - Homma *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **121**, e2313683121 (2024).
- Gタンパク質共役型受容体(GPCR)の活性化メカニズム解明へ向けた分子動力学計算（京都大学・土井 知子 准教授）
  - Tani *et al.*, *Commun. Biol.* **7**, 1303 (2024).
- 二次代謝産物生合成酵素の精密機能解析（東京大学・阿部 郁朗 教授）
  - Mori *et al.*, *Nat. Chem.* **17**, 256–264 (2025).
- パーキンソン病関連因子 DJ-1 の反応性ラクトン分解機構の解明（東京科学大学・松田 憲之 教授）
  - Watanabe *et al.*, *J. Cell. Biol.* **224**, e202411078 (2025).
- I型ポリケタイド合成酵素と基質分子の複合体構造予測（静岡県立大学・千菅 太一 助教）
  - Chisuga *et al.*, *Nat. Commun.* **16**, 6847 (2025).
- 小腸でのアミノ酸トランスポーターによる鉄輸送（サントリー生命科学財団　生物有機科学研究所・村田 佳子 特任研究員）
  - Murata *et al.*, *J. Biol. Chem.* **301**, 110731 (2025).
- Pseudomonas putida KT2440株由来のH-NSファミリータンパク質TurBの多量化モデルの構築（東京大学・水口 千穂 助教）
  - Vasileva *et al.*, *Microbiol. Spectr.* **14**, e00235-26 (2026).
- ジテルペン合成酵素の三次構造予測（山形大学・豊増 知伸 教授）
  - Hasegawa *et al.*, *Biochem. J.*, **483**, 1035–1048 (2026).
- 哺乳動物ミトコンドリアATP合成酵素の動的構造解析（京都大学・慈幸 千真理 准教授）
  - Jiko *et al.*, *Cell. Death. Differ.* in press.

鉄錯体輸送体の基質認識と輸送機構の解明

背景　イネやムギは根からムギネ酸（2'-deoxymugineic acid; DMA）を分泌し、難溶性のFe^{3+}と錯体を形成して可溶化し取り込む（図A）。鉄錯体輸送体Yellow Stripe 1（YS1）がこの鉄錯体の輸送を担う。低温電子顕微鏡によりYS1とFe(III)-DMAとの複合体の立体構造が決定された（図B）。YS1はホモ2量体を形成し、それぞれのサブユニットはCore domain（青）とscaffold domain（緑）からなる。YS1はFe(III)-DMAとH$^+$を共輸送すると考えられており、輸送メカニズムとしてCore domainが移動するelevator-like transport mechanismが提唱されている（図C）。本課題では、H$^+$輸送と構造変化の関係を明らかにするための支援を行った。

方法　Core domainの膜貫通領域に存在する3つの酸性残基（Asp446, Asp490, Asp494）（図D）について、すべてのプロトン化状態の組み合わせについて500 nsのMDシミュレーションを行った。

結果と考察　Asp494のみがプロトン化している状態では、結合状態が安定に維持されたことから、Fe(III)-DMAが結合した電子顕微鏡構造はこの状態に対応していると考えられる（図E）。3つの酸性残基すべてがプロトン化した状態では、電子顕微鏡構造でcore domainと接触しているscaffold domainのTM6がcore domainから離れることから、これらのプロトン化が、core domainの移動を誘起していることが示唆された（図E）。本研究の成果は、論文にまとめ、学術誌にて公表した。

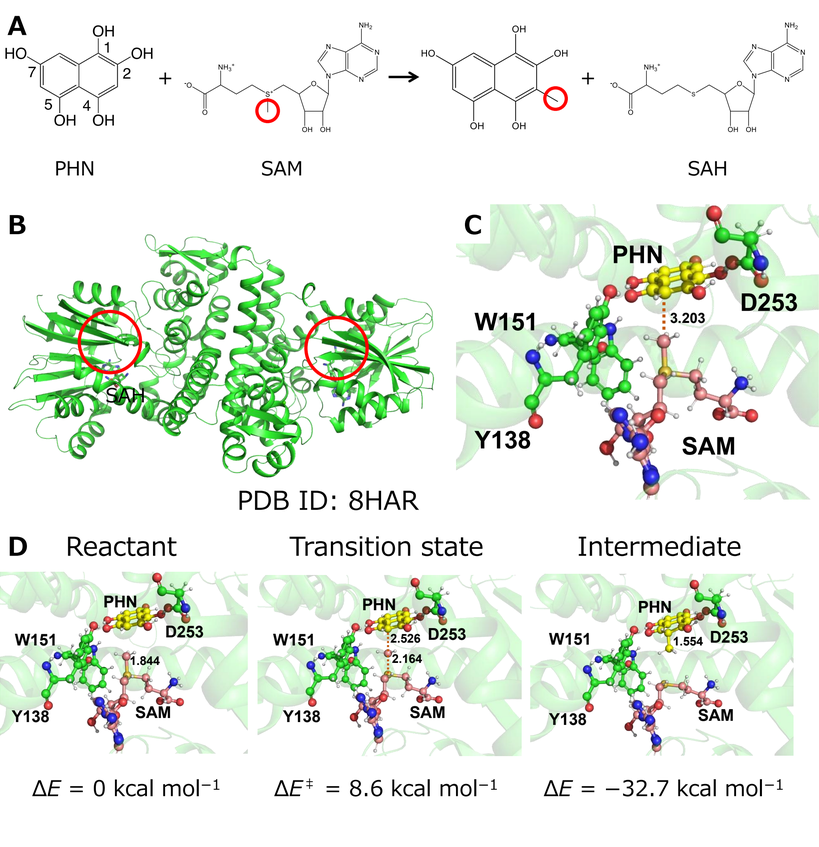


メチル基転移酵素の触媒機構の解析

背景　放線菌によって生産され、抗腫瘍活性を持つ化合物furaquinocin Dの生合成経路上で機能するメチル基転移酵素Fur6は、*S*-adenosyl-L-methionine（SAM）から1,2,4,5,7-pentahydroxynaphtalene（PHN）の3位にメチル基を転移する反応を触媒する（図A）。Fur6と、SAMがメチル基を供与した後の生成物である*S*-adenosyl-L-homocysteine（SAH）が結合した結晶構造が決定された（図B）。本課題では、この構造を用いて、基質との相互作用や、触媒機構、基質特異性のメカニズムを明らかにするための支援を行った。

方法　Epikを用いたpKa予測によりPHNのプロトン化状態を推定した後、Fur6・SAM・PHNの3者複合体のモデリングを行った。続いて、MDシミュレーションを用いて複合体モデルの安定性を確認し、さらにQM/MM法を用いて触媒機構解析を行った。

結果と考察　pKa予測の結果、中性条件下でPHNの4位または5位の水酸基が脱プロトン化していることが示唆された。Fur6に結合したSAHにメチル基を付加してSAMとした後、PHNを基質ポケットに挿入したモデルを作成し、MDシミュレーションを行った。この結果、PHNの4位が脱プロトン化したモデルで、PHNの3位とSAMのメチル基の間の距離が3.3 Å付近に安定に保持された（図C）。このモデルを用いて、QM/MM法を用いて触媒機構解析を行ったところ、活性化エネルギーは8.6 kcal mol^{-1}であることが示され、反応が常温で進行するという実験結果と一致する結果が得られた（図D）。



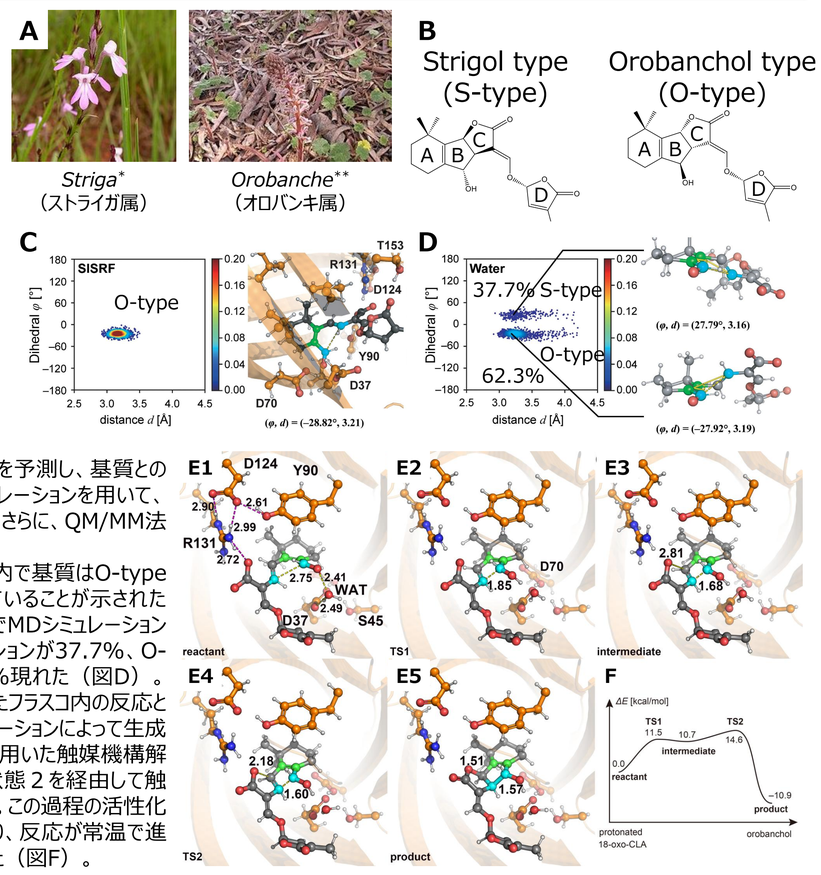
ΔE = 0 kcal mol^{-1}　　$\Delta E^{\ddagger}$ = 8.6 kcal mol^{-1}　　ΔE = −32.7 kcal mol^{-1}

ストリゴラクトン合成酵素の立体選択性制御機構の解析

背景　ストリゴラクトン（SL）は植物ホルモンの一種で、土壌に存在する菌根菌との共生を促すために、根から分泌される。ストライガやオロバンキのような寄生植物はSLを感知して出芽し、世界中で作物に深刻なダメージを与えている（図A）。SLは4つの環構造（A環、B環、C環、D環）を持ち、B-C環の立体配置によってS-typeとO-typeに分類される（図B）。合成の最終段階では、A環、D環のみを持つ前駆体の18-oxo-carlactonoic acidからB環、C環が形成する。この反応をフラスコ内で行うと、環の立体配置が異なるS-typeとO-typeが、それぞれ56%、44%生成することが知られていた。一方、トマトから同定された、この反応を触媒する酵素SlSRFはO-typeのみを生成することから、この酵素の立体選択性制御機構を明らかにするための支援を行った。

方法　AlphaFoldを用いてSlSRFの立体構造を予測し、基質との複合体のモデリングを行った。続いて、MDシミュレーションを用いて、酵素・基質複合体モデルの安定性を確認した。さらに、QM/MM法を用いて触媒機構を解析した。

結果と考察　MDシミュレーションの結果、酵素内で基質はO-typeの生成に有利なコンフォメーションに固定されていることが示された（図C）。一方、基質のみを水溶液中の環境でMDシミュレーションを行うと、S-typeの生成に有利なコンフォメーションが37.7%、O-typeの生成に有利なコンフォメーションが62.3%現れた（図D）。これは、S-typeとO-typeの混合物が生成されたフラスコ内の反応と一致していることから、反応前の基質のコンフォメーションによって生成物の立体配置が決まると言える。QM/MM法を用いた触媒機構解析の結果、遷移状態1 – 中間状態 – 遷移状態2を経由して触媒反応が進行することが明らかとなった（図E）。この過程の活性化エネルギーの最大値は14.6 kcal mol^{-1}となり、反応が常温で進行するという実験結果と一致する結果が得られた（図F）。

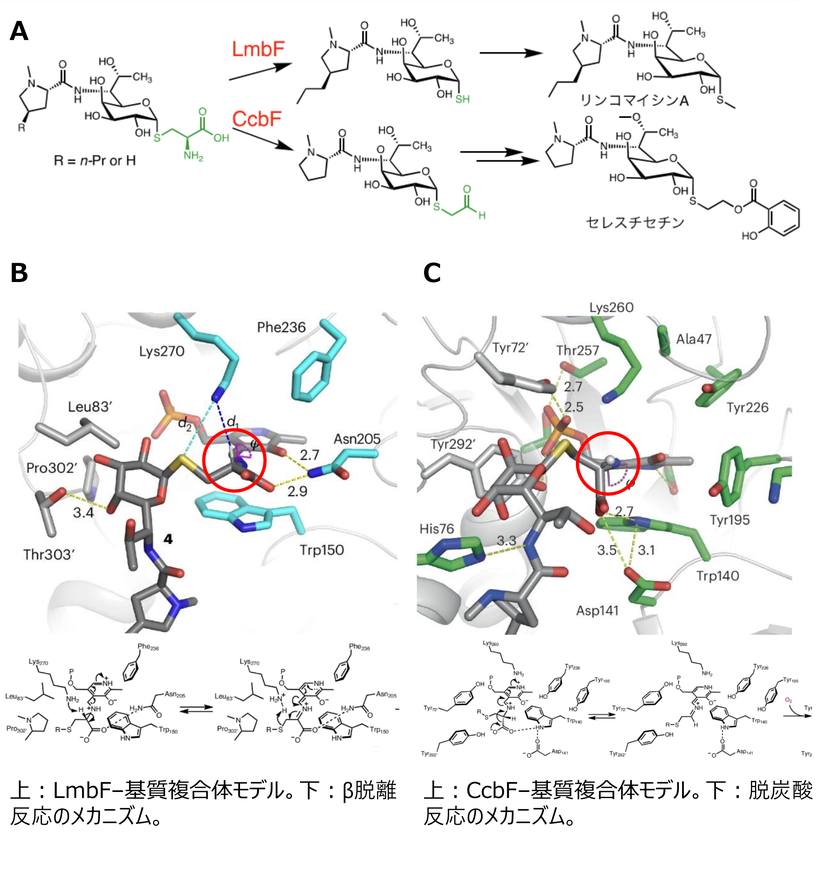


二次代謝産物生合成酵素の精密機能解析

背景　リンコサミド系抗生物質であるリンコマイシンAとセレスチセチンの生合成経路は、上流の経路を共有し、ピリドキサール5′-リン酸（PLP）依存性酵素LmbFとCcbFによって分岐する。両酵素は40%の配列相同性を有しており、同一の基質を結合する。LmbFは、この基質のS-グリコシル-L-システイン部分構造からβ-脱離反応によりチオールを生成する。CcbFはこの基質の同じ部分構造から、脱炭酸－酸化的脱アミノ化によりS-アセトアルデヒドを生成する（図A）。LmbFとCcbFの結晶構造をもとに、2つの酵素の反応選択性を制御するメカニズムを解明するための支援を行った。

方法　基質の内部自由度が大きく、ドッキングシミュレーションによって結合ポーズを予測することが困難であったため、変異実験のデータと、β-脱離反応を起こすための条件に基づいて、基質との複合体のモデリングを行った。さらにMDシミュレーションを用いて安定性の確認を行った。

結果と考察　LmbFにおいて基質は、触媒残基であるLysの側鎖アミノ基と基質のα炭素に結合した水素原子が十分近接することができ、さらにその側鎖がγ位の硫黄原子とも近接できるようなコンフォメーションを安定にとることが示された（図B）。CcbFにおいては、α炭素に結合した水素原子はLys残基に近づくことはできなかった（図C）。このため、CcbFではβ-脱離反応は起こらず、代わりに脱炭酸－酸化的脱アミノ化反応が進行し、S-アセトアルデヒド生成物が得られることが示唆された。これらの計算結果をもとに依頼者が変異実験を行い、複合体モデルから示唆された反応選択性のメカニズムを支持する結果を得た。



上：LmbF–基質複合体モデル。下：β脱離反応のメカニズム。

上：CcbF–基質複合体モデル。下：脱炭酸反応のメカニズム。

本発表について、開示すべき利益相反（COI）関係にある企業・法人組織や営利を目的とした団体はありません。