

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月24日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2016～2018

課題番号：16KT0054

研究課題名(和文) 複雑生体分子複合系の状態遷移経路の探索と制御に関する理論研究

研究課題名(英文) Theoretical study on transition path search algorithms in complex biomolecular systems

研究代表者

高田 彰二 (TAKADA, Shoji)

京都大学・理学研究科・教授

研究者番号：60304086

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,300,000円

研究成果の概要(和文)：大自由度が関わる生体分子複合体の大規模構造変化において、状態変化を記述できる遷移経路の探索アルゴリズムの開発・実装を行い、それを細胞生物学的課題・ヌクレオソーム動態に適用した。

熱揺らぎによる自発的な、およびATP依存クロマチンリモデラーによる能動的なヌクレオソームスライディングについて、独自の粗視化分子分子動力学(MD)シミュレーションをもとに、マルコフ状態モデル(MSM)を構築し、遷移経路解析を行った。また、ヌクレオソーム自己組織化の自由エネルギー地形について、超大規模なシミュレーションをもとにMSMを構築し、塩濃度依存的なヌクレオソーム形成・分解過程の新しい描像を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヌクレオソーム構造・動態は、近年のクロマチン研究・エピゲノム研究に関連して盛んに研究がおこなわれている。大部分は実験研究であるが、本研究は実験データに基づきながら分子動態を可視化することに成功しており、ヌクレオソーム動態にユニークな視点を与えた。

それを可能にした要因は、独自の粗視化分子シミュレーション技法と、マルコフ状態モデリングの組合せである。この方法は複雑分子系についてその遷移状態を詳細に解析する方法として強力なものであるといえる。同時に、他の研究者の利用に資するために、開発し研究に利用したシミュレーションソフトウェアCafeMolのソースコードをすべて公開している。

研究成果の概要(英文)：We developed and implemented algorithms that can characterize large-scale structural changes in large-biomolecular complexes. Then, the methods are applied to biological problems, in this case, nucleosome structural dynamics.

First, we investigated thermally-driven spontaneous and ATP-dependent chromatin remodeler-driven nucleosome sliding processes. For the purpose, utilizing our own coarse-grained molecular dynamics methods, we could perform complete transition pathways analysis via Markov-state-modeling. In addition, we realized free energy landscape of nucleosome self-organization, again via Markov state modeling, from which we obtained detailed and salt-concentration dependent nucleosome formation/disassembly pathways.

研究分野：計算生物物理学

キーワード：計算生物物理 生体分子シミュレーション 遷移経路探索 マルコフ状態モデル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

化学反応等の反応経路および遷移状態探索の理論は、古くから盛んに研究され、極限反応座標 IRC など多くの有力な概念・方法を生み出してきた。しかし、複雑生体分子複合体の大規模な高次構造変化の際には、大自由度空間上で状態遷移の経路を探索することは(あるいは遷移状態を想像することすら)極めて困難である。また、状態遷移が、一つの定まった“経路”によって記述できる保証もなく、複数、あるいは広がった経路アンサンブルとしてとらえる必要がある場合も多い。このような場合には、従来の化学反応経路理論はそのままで適用できない。例えば、リン脂質二重膜でできたベシクル2つが融合し1つの大きなベシクルに変化する過程(ベシクル融合)では、大自由度が関わり、良い“反応座標”を想像することも難しい。このように極めて複雑な状態遷移にも適用可能な遷移経路、遷移状態探索アルゴリズムの開発は重要な課題である。

2. 研究の目的

研究代表者は、生体分子シミュレーション研究の分野で、10年以上にわたりマルチスケール技法により独自の粗視化タンパク質モデルを構築し、それを実装したソフトウェア CafeMol を開発、一般に公開、広く普及に努めてきた。粗視化シミュレーションによって長時間の実時間ダイナミクスを解析することを追求してきた。しかし、それでも到達できない長時間現象が多いことも実感してきた。そこで本研究では、実時間ダイナミクスではなく、遷移経路探索アルゴリズムを適用することで、現状よりも桁違いに長時間・大規模の状態遷移を理論的に取り扱うことに挑戦しようと考えた。

そこで、本研究の目的は、大自由度が関わる生体分子複合体の大規模構造変化において、1)その状態変化を記述できる遷移経路の探索アルゴリズムの開発・実装を行い、2)それを具体的な細胞生物学的課題のいくつかに適用し、それによって、状態変化の遷移状態を制御する方法を明らかにすることである。

3. 研究の方法

ヌクレオソームスライディング過程を対象として、大自由度系の大規模構造変化の遷移経路探索アルゴリズムを開発・実装した。まず、ストリング法とマルコフ状態モデリング、2つのアルゴリズムを検討した。ストリング法は、非常に複雑な反応の何らかの遷移経路を必ず探索できるという利点を持つ反面、得られた遷移経路は、最初に与える初期経路候補に依存しており、しばしば初期経路に近いものであり最適解にはならないことがわかる。一方、マルコフ状態モデリングは、標的とする状態間を連結するシミュレーションが実現できるか否かあらかじめ分からないという難点はあるが、初期経路候補を使わないため恣意性が低く、(あらかじめ想像できない)より自由エネルギー障壁の低い遷移経路を探索できる可能性がある。以上の考察の下、本研究では、マルコフ状態モデリングを採用することにした。シミュレーションの流れは次のようなものである。対象分子系(ヌクレオソーム)の状態変化(スライディング)の素過程を含む多数(本研究では、系によって100本から1000本程度)の分子動力学シミュレーションを実施する。得られた時系列データから、tICAによって特徴抽出を行う。クラスタリング(K-means法)により、ミクロ状態空間を定義し、時系列データから一定のラグ時間における状態間の遷移確率を算出する。得られた離散状態空間と、その間の遷移確率から、状態変化を定量的に計算することがで

きる。

4 . 研究成果

まず、CGCGCG,,,CGのように周期2塩基の単純塩基配列（とそれに相補的な配列）の2本鎖DNAをヒストン8量体に巻き付けたヌクレオソームに対して、我々独自の粗視化分子シミュレーションによって、数塩基対程度のスライディングを観察することが出来た。その変化トラジェクトリから得られた構造アンサンブルをクラスタリングし、離散的な状態空間を構築した。次に、この状態間の遷移確率行列を（シミュレーションデータから）算出した。状態間の遷移確率行列が計算できると、マルコフ状態モデリングの標準的な計算ツールを利用することによって、状態遷移のネットワーク解析、全体のスライディングの主要な変化経路、その中の遷移状態構造を同定することに成功した。上記のpolyCG等の単純周期DNA配列の場合、スライディングはDNAの2本鎖DNA長軸まわりの回転と共役して起こった。クラスタリングで得られる準安定状態は、約10塩基対のDNAひと巻きが、時として伸びて9塩基対になるか、あるいは縮んで11塩基対になる「巻き数欠損」をもった状態として説明できた。この「巻き数欠損」の位置が端から端まで移動することで、全体としてヌクレオソームスライディングが達成されることがあきらかになった。

次に、ヌクレオソーム親和性が高い601配列についてのマルコフ状態モデリングに進んだ。単純繰り返しDNA配列の場合には2塩基対スライディングを周期にもつ比較的少ない状態数のマルコフ状態モデリングが可能であったのに対して、601配列の場合には10塩基対スライディングを（近似的な）周期とみなす必要がある。この場合、単純繰り返し配列の場合に実施したDNA2重らせん巻き（約10塩基対）ごとの解析は複雑すぎるため、支配的な運動をするDyad付近のスライディングに限定した。10塩基対スライディングの種々の中間状態から始める短時間MDシミュレーションを多数行い、クラスタリングの後、マルコフ状態モデルを構築することができた。これにより、601配列の10塩基対スライディングの自由エネルギープロファイルおよび、運動の時間スケールを見積もることに成功した(Brandani et al, NAR 2017)。

さらに、上記の熱揺らぎによる自発的ヌクレオソームスライディング過程の遷移状態、遷移経路解析を踏まえて、ATP加水分解によって働く分子機械であるクロマチンリモデラーによるヌクレオソームスライディング過程の遷移経路解析を行った。ATP依存的にリモデラーsnf2の構造を変化させ、そのときのヌクレオソーム上のDNAスライディングを、マルコフ状態モデリングによって解析することに成功した。この場合にも、たくさんの短いシミュレーションとマルコフ状態モデルが遷移経路解析にもっとも効率的であった。明らかになったのは、ATP依存リモデラーがヌクレオソーム上のDNAを特定の位置(SHL1.5)で”押す”ことによって、昨年見出した巻き数欠損が2つ出現し、そのひずみがヌクレオソーム全体に伝播し効率よいスライディングを可能にする、というメカニズムである。リモデラーがSHL1.5の位置のDNAを押すと、その片側SHL1では+1塩基を含む巻き数欠損、反対側SHL2では-1塩基対を含む巻き数欠損が生じる。SHL2に生じた巻き数欠損は、比較的速やかにSHL3, SHL4,,と伝播し、片側のスライディングを実現する。一方、SHL1に生じた巻き数欠損はもっとも強固なdyad付近のSHL0, SHL-1,,,をゆっくりと伝播し、もう片側のスライディングを可能にする。研究成果は、PLoS Comp. Biol. 2018に掲載された。その後、関連したリモデリング機構を研究している複数の海外の研究者から問い合わせを受け、共同研究に発展し

ている。

明らかになったのは、ATP 依存リモデラーがヌクレオソーム上の DNA を特定の位置 (SHL1.5) で " 押す " ことによって、昨年見出した巻き数欠損が 2 つ出現し、そのひずみがヌクレオソーム全体に伝播し効率よいスライディングを可能にする、というメカニズムである。リモデラーが SHL1.5 の位置の DNA を押すと、その片側 SHL1 では +1 塩基を含む巻き数欠損、反対側 SHL2 では -1 塩基対を含む巻き数欠損が生じる。SHL2 に生じた巻き数欠損は、比較的速やかに SHL3, SHL4, と伝播し、片側のスライディングを実現する。一方、SHL1 に生じた巻き数欠損はもっとも強固な dyad 付近の SHL0, SHL-1, ,, をゆっくりと伝播し、もう片側のスライディングを可能にする。研究成果は、PLoS Comp. Biol. 2018 に掲載された。その後、関連したリモデリング機構を研究している複数の海外の研究者から問い合わせを受け、共同研究に発展している。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 11 件)

Giovanni B. Brandani and Shoji Takada, Chromatin remodelers couple inchworm motion with twist-defect formation to slide nucleosomal DNA, PLoS Computational Biology, Biol 14(11): e1006512. , 2018, <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006512>, 査読有

Cheng Tan and Shoji Takada, Dynamic and Structural Modeling of the Specificity in Protein-DNA Interactions Guided by Binding Assay and Structure Data, Journal of Chemical Theory and Computation, 14 (7), pp 3877-3889, 2018, doi: 10.1021/acs.jctc.8b00299, 査読有

Shuhei Watanabe, Yuichi Mishima, Masahiro Shimizu, Isao Suetake, and Shoji Takada, Interactions of HP1 bound to H3K9me3 di-nucleosome by molecular simulations and biochemical assays, Biophysical Journal, Vol. 114, issue10, P2336-2351, 2018, doi:<https://doi.org/10.1016/j.bpj.2018.03.025>, 査読有

Masahiro Shimizu and Shoji Takada, Reconstruction of atomistic structures from coarse-grained models for protein-DNA complexes, Journal of Chemical Theory and Computation, Vol.14, pp.1682-1694, 2018, <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jctc.7b00954>, 査読有

Giovanni B. Brandani, Toru Niina, Cheng Tan, Shoji Takada, DNA sliding in nucleosomes via twist defect propagation revealed by molecular simulations, Nucleic Acids Research, Vol.46, pp.2788-2801, 2018, <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gky158>, 査読有

Toru Niina, Giovanni B. Brandani, Cheng Tan, Shoji Takada, Sequence-dependent nucleosome sliding in rotation-coupled and uncoupled modes revealed by molecular simulations, PLoS Computational Biology, Vol.13, pp.e1005880, 2017, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005880>, 査読有

Shintaroh Kubo, Wenfei Li, and Shoji Takada, Allosteric conformational change cascade in cytoplasmic dynein revealed by structure-based molecular simulations, PLoS Computational Biology, Vol.13, pp.e1005748, 2017, <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005748>, 査読有

Masahiro Shimizu, Yasunori Noguchi, Yukari Sakiyama, Hironori Kawakami, Tsutomu Katayama, and Shoji Takada, Near-atomic structural model for bacterial DNA replication initiation complex and its functional insights, Proceedings of the National Academy of Sciences USA, December 13, 2016, vol.113, no.50, E8021-E8030, doi: 10.1073/pnas.1609649113, 2016.11, 査読有

Le Chang and Shoji Takada, Histone acetylation dependent energy landscapes in tri-nucleosome revealed by residue-resolved molecular simulations, Scientific Reports, 6: 34441 (13 pages) , doi: 10.1038/srep34441, 2016.10, 査読有

Cheng Tan, Tsuyoshi Terakawa, and Shoji Takada, Dynamic Coupling among Protein Binding, Sliding, and DNA Bending Revealed by Molecular Dynamics, J. Am. Chem. Soc., 138: 8512-8522, 2016.6 , DOI: 10.1021/jacs.6b03729, June 16, 2016, 査読有

Alexander Krah, and Shoji Takada, On the ATP binding site of the ϵ subunit from bacterial F-type ATP synthases, Biochimica et Biophysica Acta - Volume 1857, Issue 4, April 2016, Pages 332-340, doi:10.1016/j.bbabi.2016.01.007, 査読有

〔学会発表〕(計 19 件)

- Cheng Tan, Shoji Takada, Investigating Genome Organization and Regulation with Coarse-Grained Molecular Simulations, 第 56 回日本生物物理学会年会, 2018
- Cheng Tan, Shoji Takada, Mechanism of Biomolecular Dynamics and Function Revealed by Multiscale Physics, 第 56 回日本生物物理学会年会, 2018
- Mami Saito, Shoji Takada, Distinct binding of nuclear proteins to non B-type DNA studied by molecular simulations, 第 56 回日本生物物理学会年会, 2018
- Diego Ugarte, Shoji Takada, Implicit Solvent Coarse-Grained Lipid Model for Molecular Simulations of Multicomponent Membrane Systems, 第 56 回日本生物物理学会年会, 2018
- Yutaka Murata, Toru Niina, Shoji Takada, Flipping mechanisms of bacterial flippase Pg1K studied by all-atom and coarse grained simulations, 第 56 回日本生物物理学会年会, 2018
- Genki Shino, Masahiro Shimizu, Shintaro Kubo, Toru Niina, Shoji Takada, DNA Opening in Transcription Initiation Complex Studied by Coarse-grained Molecular Simulation, 第 56 回日本生物物理学会年会, 2018
- Slevin Ohama Hana, Ugarte Diego, Shoji Takada, Mesoscopic Molecular Simulation for Self-assembly of the Postsynaptic Density Proteins, 第 56 回日本生物物理学会年会, 2018
- Manami Ikeda, Shoji Takada, How Toll-like receptor 4 dimerization is activated in lipid raft studied by molecular simulations, 第 56 回日本生物物理学会年会, 2018
- Diego Ugarte, Shoji Takada, Coarse-Grained Force Field for Molecular Simulations of Lipid-Protein System, 第 18 回日本蛋白質科学会年会, 2018
- 村田隆, 新稲亮, 高田彰二, フリッパーゼ作動機構解明に向けた糖鎖付加脂質の動態解析と粗視化モデリング, 第 18 回日本蛋白質科学会年会, 2018
- 篠元輝, 清水将裕, 久保進太郎, 新稲亮, 高田彰二, 転写開始前複合体 PIC 形成と DNA 開裂の粗視化分子シミュレーション研究, 第 18 回日本蛋白質科学会年会, 2018
- Shoji Takada, In vitro versus in vivo protein folding studied by molecular simulations, Nobel Symposium on Protein Folding: From Mechanisms to Impact on Cells, SÅnga-SÅby, Sweden, 2017
- Toru Niina, Giovanni Brandani, Cheng Tan, Shoji Takada, Sequence Dependent Spontaneous Nucleosome Slidings Revealed by Molecular Dynamics Simulation, 第 55 回日本生物物理学会年会, 2017
- Diego Ugarte, Shoji Takada, A New Coarse-Grained Lipid Model for the Study of Lipid-Membrane Protein Systems, 第 55 回日本生物物理学会年会, 2017
- Shoji Takada, Dynamics of nucleosomes and transcription factors studied by molecular simulations, 第 55 回日本生物物理学会年会, 2017
- Shoji Takada, Coarse-grained molecular simulations for giant protein-DNA complexes, American Physical Society Meeting, New Orleans, 2017
- Shoji Takada, Protein folding and misfolding studied by molecular simulations, International IPR Seminar “New Frontiers in Protein Misfolding and Aggregation”, Institute for Protein Research, Osaka University, 2017
- 清水将裕, 野口泰徳, 崎山友香里, 川上広宣, 片山勉, 高田彰二, 細菌 DNA 複製開始複合体の近原子構造モデルと機能解析, 第 39 回日本分子生物学会年会, 2016
- Shoji Takada, Multiscale Modeling of Flexible Biomolecular Complex, 4th International Conference on Molecular Simulation (ICMS 2016), Shanghai, China, 2016

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。