

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：32660

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06592

研究課題名（和文）量子化学計算による原始RNAのL-アミノ酸選択的アミノアシル化の分子機構解明

研究課題名（英文）Mechanism of Chiral-Selective Aminoacylation of a Primordial RNA Minihelix Studied by Quantum Chemical Calculations

研究代表者

安藤 格士（Ando, Tadashi）

東京理科大学・先進工学部電子システム工学科・准教授

研究者番号：30385546

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：地球上の生物はなぜL-アミノ酸（左手型アミノ酸）を利用するようになったのかという「アミノ酸のホモキラリティー」の起源問題は、生命進化の大きな謎のひとつであり、その鍵を握るものとして「L-アミノ酸選択的なRNAのアミノアシル化反応」が注目されている。しかし、なぜL-アミノ酸選択的なものが、その理由は明らかとなっていない。本研究では、シュレディンガー方程式に基づいた量子力学計算とニュートンの古典力学に基づいた分子力学・分子動力学計算を組み合わせたシミュレーション法によって、遷移状態を含むL-アミノ酸選択的なRNAのアミノアシル化反応全体のメカニズムを初めて明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究成果は長年謎であった「タンパク質はなぜL-アミノ酸から構成されているのか？」という生命進化上の大きな問題の解決に対して、量子化学、分子化学の視点から新たな光を投げかけるとともに、生命進化という極めて生物学的な研究対象に対しても、計算科学が重要な役割を果たすことができることを示している。また、本研究で得られた知見や、その計算手法は、キラル選択的な反応を制御するタンパク質工学・核酸工学への展開も期待できる。

研究成果の概要（英文）：Modern organisms use a set of 20 L-amino acids to synthesize proteins even though their enantiomer D-amino acids also exist on Earth. The origin of amino acid homochirality is one of the great mysteries of evolution of life. L-amino acid selective aminoacylation reaction on RNA is a key to solve this mystery. However, mechanisms of L-amino acids selectivity had not been clear. In this study, we have revealed the mechanism, including structure of the transition state, using a simulation method that combines quantum mechanical calculations based on Schrodinger's equation and molecular dynamics calculations based on Newton's classical mechanics.

研究分野：生物物理学

キーワード：アミノ酸ホモキラリティー 量子化学計算

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

タンパク質は生命活動の中心を担う分子であり、アミノ酸が鎖状につながった高分子である。宇宙にはL型とD型という鏡像関係の構造をもつアミノ酸がほぼ同量で存在しているにもかかわらず、現在の生物は、鏡像異性体をもたないグリシンを除いて、L-アミノ酸のみを利用してタンパク質を合成している(図1)。これは、「アミノ酸のホモキラリティー」と呼ばれており、その起源は生命進化の大きな謎として未だ残されている。

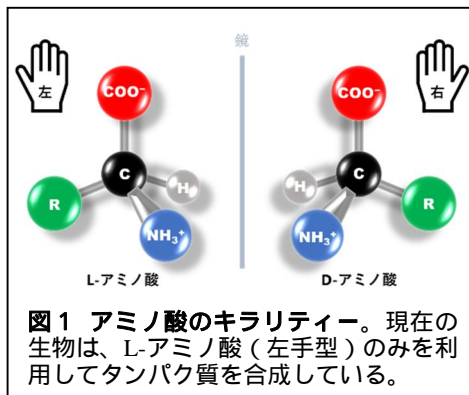


図1 アミノ酸のキラリティー。現在の生物は、L-アミノ酸(左手型)のみを利用してタンパク質を合成している。

アミノ酸のホモキラリティーの起源については様々な説が唱えられている。その有力な説の一つとして、過剰のL-アミノ酸が隕石によって原始地球にもたらされたとするものがある。これは、素粒子が持つ本質的な対称性の破れや、宇宙での円偏光の存在により、L-アミノ酸がD-アミノ酸よりもごくわずかに多く存在することが考えられるためである。しかしながら、仮にL-アミノ酸が原始地球にわずかに過剰に存在したとしても、それがL-アミノ酸のみから構成されるタンパク質を形成するまでには、L型とD型が等量混在する状態になるラセミ化の壁を乗り越える必要がある。それゆえに、この説が、即、「アミノ酸のホモキラリティー」の起源につながるとは言い難いと考えられる。

2004年、田村らはtRNAの原始モデル系であるRNAミニヘリックスにおいて、酵素はなくRNA単独であってもL-アミノ酸が優先的にRNAに結合する現象を発見した(Tamura and Schimmel, *Science*, **305**, 1253 (2004)) (図2)。tRNAのアミノアシル化反応は、現在の地球上の生物がタンパク質を合成する最初のステップの反応であり、アミノアシルtRNA合成酵素という酵素が対応するL-アミノ酸とそのアミノ酸の運搬を担うtRNAを厳密に認識し、反応を触媒している。

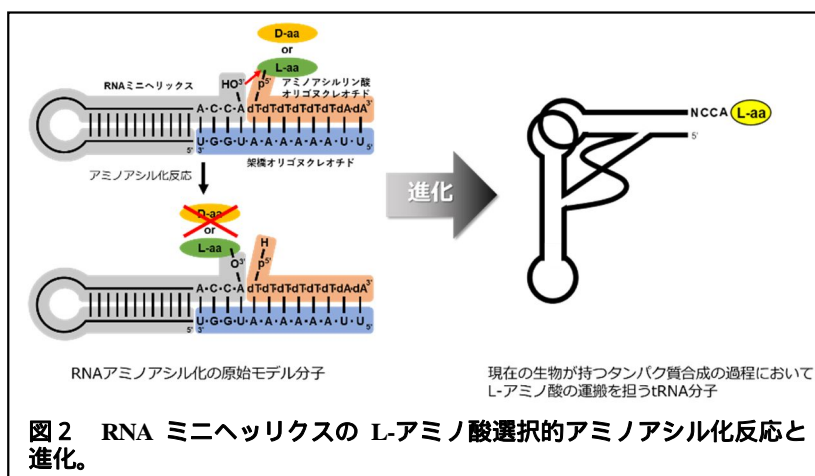


図2 RNAミニヘリックスのL-アミノ酸選択的アミノアシル化反応と進化。

また、現在の生物は核酸にもホモキラリティーがあり、D型の糖を使用しているが、田村らが行った実験でもD型のRNAが使用されている。さらに、現存生物の誕生前の地球には、RNAが遺伝情報を保持するとともに化学反応も触媒する「RNAワールド」が存在したとの仮説がある。生命の起源とタンパク質合成系の進化の連続性を考えた場合、田村らの発見は、アミノ酸のホモキラリティーはRNAワールドにおけるD型RNAのL-アミノ酸選択的アミノアシル化反応を起源にしていることを強く示唆している。

RNAミニヘリックスのL-アミノ酸選択的アミノアシル化反応は、「アミノ酸のホモキラリティー」の起源の解明につながる重要な反応である。しかし、このモデル反応系で使われる化合物は非常に不安定であり、X線回折などの手法を用いての構造解析が困難なため、そのメカニズムの詳細は長く不明であった。本研究の申請者である安藤は、計算科学を用いてこの分子メカニズムを解明しようと、古典力学に準じて分子のエネルギーを計算する分子力学計算、および分子の動きを原子のレベルでシミュレーションすることができる分子動力学法を用いて研究を進めていた。アミノアシル化反応中で許される原子間の距離、原子が近づく角度を、化学的、および、幾何学的観点から詳細にシミュレーション結果を解析し、L-アミノ酸の選択性を決定するメカニズムを議論した(Ando et al., *Nucleic Acid Res.*, **46**, 11144 (2018))。一般的に原子間の結合の解離、生成を伴う化学反応のメカニズムを知るためには、遷移状態を含む、分子の反応前の状態から反応後の状態へと移り変わる様子を調べることが必須となっている。しかしながら、古典力学に準じたシミュレーション法であるがゆえに、化学反応を直接的に計算することができない。これがキラリ選択的なアミノアシル化反応の詳細なメカニズムを議論する上で大きな問題として残されていた。

2. 研究の目的

本申請研究においては、量子力学計算を取り入れたシミュレーション法を用いることで、化学反応を直接的に計算することができないという残されていた問題を解決し、RNA ミニヘリックスのキラル選択的アミノアシル化反応全体のメカニズムを明らかにすることを目的とした(図3)。

3. 研究の方法

今回の研究では、化学反応を扱うことが可能な量子力学 (Quantum Mechanics: QM) 計算と従来の古典力学に準じた分子力学 (Molecular Mechanics: MM)・分子動力学 (Molecular Dynamics: MD) 計算を組み合わせた QM/MM-MD 法を用いた。また、

反応自由エネルギー変化の効率的な計算を可能とするアンブレラサンプリング法を QM/MM-MD 法に組み合わせることにより、L-アラニンと D-アラニン(アラニンはアミノ酸の一種)のアミノアシル化反応の違いを自由エネルギーの観点からも議論することを可能とした。

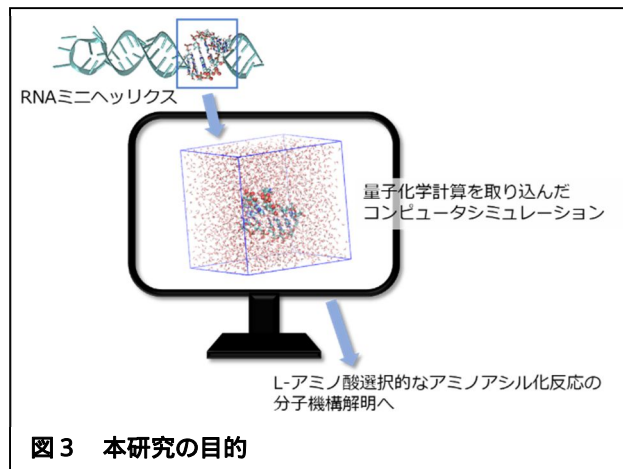


図3 本研究の目的

4. 研究成果

QM/MM-MD シミュレーションの結果、この RNA のアミノアシル化反応において、L-アラニンの反応自由エネルギーの障壁の高さは、D-アラニンに比べ 9kcal/mol 程低いと計算された(図4)。このエネルギー差は実験から見積もられる値よりも大きいものの、L-アミノ酸が選択的にアミノアシル化されるという実験結果を上手く説明できるものであった。また、QM/MM-MD シミュレーションで可視化された反応過程の分子の状態を調べたところ、遷移状態において活性部位周辺の各官能基の幾何学的な配置は L-アラニンと D-アラニンでは大きく異なっており、D-アラニンに比べ L-アラニンでは遷移状態を静電的により安定化させるように各官能基が配置していることを見出した(図4)。以上の結果は、国際雑誌「Life」に2023年3月7日付けでオンライン掲載された(Ando and Tamura, *Life*, 13, 722 (2023))。

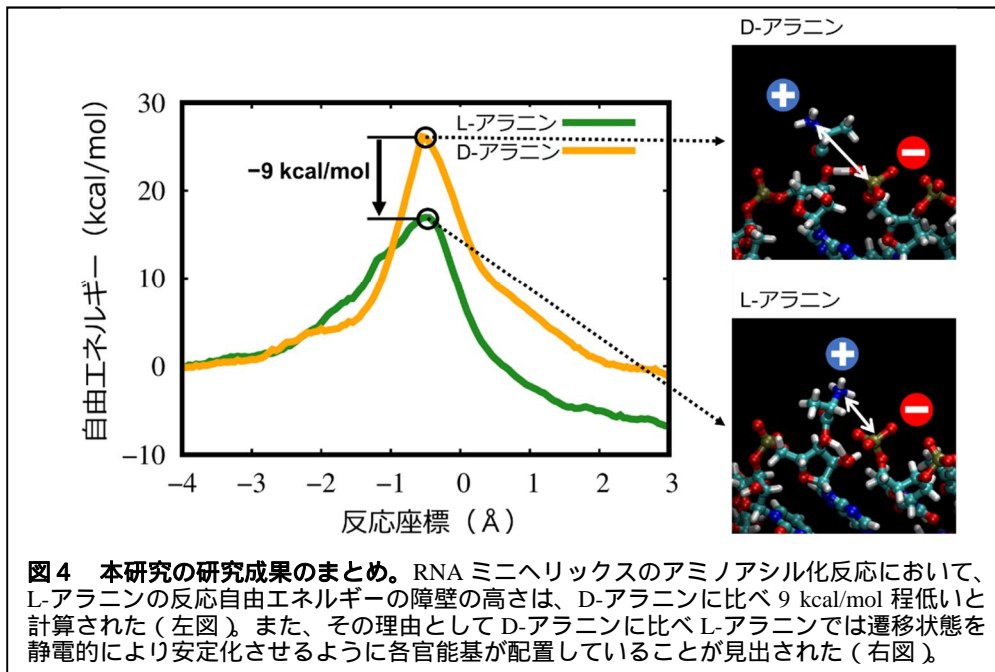


図4 本研究の研究成果のまとめ。RNA ミニヘリックスのアミノアシル化反応において、L-アラニンの反応自由エネルギーの障壁の高さは、D-アラニンに比べ 9 kcal/mol 程低いと計算された(左図)。また、その理由として D-アラニンに比べ L-アラニンでは遷移状態を静電的により安定化させるように各官能基が配置していることを見出された(右図)。

本研究は、生命進化の謎を解明するための極めて重要な成果であり、RNA ミニヘリックスにおいて、L-アミノ酸選択性を生み出すメカニズムを量子力学計算で説明しうることが明らかとなった。計算科学を用いて L-アミノ酸選択性の仕組みを解明したことによって、キラル選択的な反応を制御するタンパク質工学・核酸工学への新たな展開も期待できる。また、より高精度な量子力学計算を用いることにより、今後、より詳細で定量的なメカニズムの解明につながる可能性を秘めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ando Tadashi, Tamura Koji	4. 巻 13
2. 論文標題 Mechanism of Chiral-Selective Aminoacylation of an RNA Minihelix Explored by QM/MM Free-Energy Simulations	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Life	6. 最初と最後の頁 722 ~ 722
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/life13030722	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Tadashi Ando
2. 発表標題 Chiral selectivity mechanism on aminoacylation of an RNA minihelix studied by quantum mechanics/molecular mechanics free energy simulations
3. 学会等名 第60回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takato Masui and Tadashi Ando
2. 発表標題 Mechanism of chiral-selective aminoacylation of an RNA minihelix studied by quantum mechanics/molecular mechanics free energy simulations
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------