

Title	翻訳過程における高精度タンパク質合成の分子機構の解明
Sub Title	Molecular mechanism of the accurate protein synthesis of the ribosome in translation
Author	森, 義治(Mori, Yoshiharu)
Publisher	
Publication year	2025
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2024.)
JaLC DOI	
Abstract	粗視化シミュレーションを用いた巨大生体分子複合体における自由エネルギー計算およびブラウン運動シミュレーションによる混雑環境における分子解離の濃度依存性に関する研究を実施した。前者においては、tRNAの解離自由エネルギーを計算することによりリボソームにおけるtRNAの安定化を実現している分子群を特定することができた。また後者においては、混雑環境におけるtRNAの拡散係数の計算方法を確立するとともに、これらの拡散係数を利用することにより生体分子複合体からの解離時間を計算することを可能にした。 I performed free energy calculations for large biomolecular complexes using coarse-grained simulations. I identified a group of molecules that stabilize tRNA in the ribosome by calculating the dissociation free energy of tRNA. Additionally, I investigated the concentration dependence of molecular dissociation in crowded environments using Brownian motion simulations. I developed a method to calculate the diffusion coefficient of tRNA in crowded environments, which made it possible to calculate dissociation times from biomolecular complexes using these diffusion coefficients.
Notes	研究種目：基盤研究 (C) (一般) 研究期間：2021～2024 課題番号：21K06113 研究分野：計算生物物理学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_21K06113seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

令和 7 年 5 月 22 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2024

課題番号：21K06113

研究課題名（和文）翻訳過程における高精度タンパク質合成の分子機構の解明

研究課題名（英文）Molecular mechanism of the accurate protein synthesis of the ribosome in translation

研究代表者

森 義治 (Mori, Yoshiharu)

慶應義塾大学・理工学研究科（矢上）・特任准教授

研究者番号：90646928

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000 円

研究成果の概要（和文）：粗視化シミュレーションを用いた巨大生体分子複合体における自由エネルギー計算およびブラウン運動シミュレーションによる混雑環境における分子解離の濃度依存性に関する研究を実施した。前者においては、tRNAの解離自由エネルギーを計算することによりリボソームにおけるtRNAの安定化を実現している分子群を特定することができた。また後者においては、混雑環境におけるtRNAの拡散係数の計算方法を確立するとともに、これらの拡散係数を利用することにより生体分子複合体からの解離時間を計算することを可能にした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題の方法により分子の会合・解離の動的過程が理解できるようになると、セントラルドグマにおける様々な巨大複合体での反応や免疫系の抗原認識過程などの速度論を評価できるようになる。さらに一分子FRET等の解析との融合により速度論に基づく生物学が発展することが期待できる。また計算による分子結合の速度論は薬剤設計にも役立つことが期待される。これまでは薬剤分子と受容体との結合親和性を基に薬剤分子の設計を行ってきたが、近年では薬剤分子結合の速度論的な面も重要であると考えられている。本手法の確立はこのような分野に波及することが期待される。

研究成果の概要（英文）：I performed free energy calculations for large biomolecular complexes using coarse-grained simulations. I identified a group of molecules that stabilize tRNA in the ribosome by calculating the dissociation free energy of tRNA. Additionally, I investigated the concentration dependence of molecular dissociation in crowded environments using Brownian motion simulations. I developed a method to calculate the diffusion coefficient of tRNA in crowded environments, which made it possible to calculate dissociation times from biomolecular complexes using these diffusion coefficients.

研究分野：計算生物物理学

キーワード：細胞内環境 分子選択性 タンパク質合成 リボソーム 分子シミュレーション 粗視化モデル ブラウン運動 拡散係数

※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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

(1) タンパク質合成装置リボソームにおける誤り率の低さ

細胞の中には多数の類似した分子が存在する。例えばアミノ酸や tRNA のそれぞれは似た構造・化学的特性を持つ分子の集合であるが、このような類似した分子は細胞中でどのように見分けられているのだろうか。このような現象は Michaelis-Menten 型の 2 状態モデルでの平衡論では説明できない。例えばタンパク質合成過程におけるリボソームでの tRNA 結合の誤り率は 0.01% 程度であると推定されているが、自由エネルギー差に基づいた計算では誤り率はその 100 倍の 1% となる。

このような不整合は、例えば Kinetic proofreading (J. J. Hopfield, PNAS, 71, 4135, 1974) と呼ばれる機構によって説明されてきた。このモデルでは類似分子の自由エネルギー差というよりも解離速度定数の比が重要だということが示されている。このような誤り率を減少させる機構は DNA 複製時の正しい核酸の取り込み過程や免疫系の抗原認識過程にもみられる。このようなことから「多数の類似分子」の中から正しい基質を選択する分子的機構を理解するためには、反応の速度論と関連する分子過程を理解することが重要となる。

(2) タンパク質翻訳装置リボソームはどのように正しい分子を見分けているのか

多数の類似分子の中から正しい基質を選択する機構が Kinetic proofreading やより複雑なモデルに基づいているとすると、誤り率は平衡定数（自由エネルギー差）だけではなく速度定数にも依存する。したがって表題の問いに答えるためには解離速度定数などの速度論パラメータやその決定要因を分子論的方法から明らかにする方法が必要となる。分子シミュレーションのような計算手法は生体現象の分子機構を解明するのに役立ってきた。しかしながらこれまでの研究は自由エネルギー計算による平衡論的安定性に関するものが多い。したがってリボソームのような大規模な系でも速度論的な量を計算できる方法論が必要となる。

2. 研究の目的

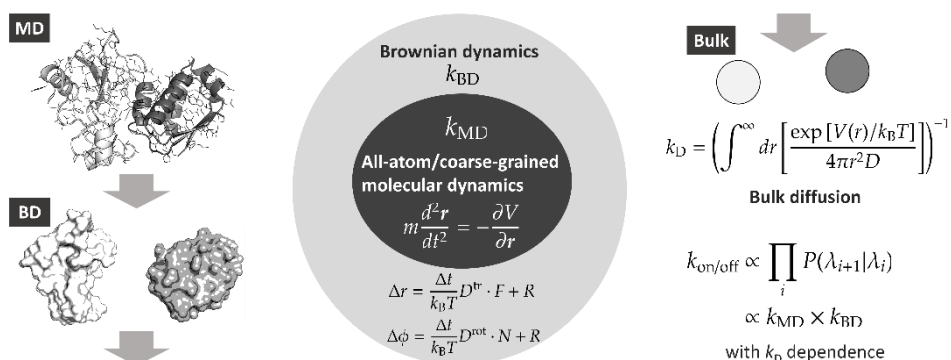
1 の背景・問いに基づいて、本研究課題においては速度定数の分子論的計算法の確立と速度論的観点による細胞中の生体分子認識機構の解明を目的とした。具体的には、分子シミュレーションを利用した分子の会合・解離速度定数計算手法の開発およびタンパク質合成装置リボソームの正確な tRNA 選択機構の速度論的解明により上記目的を達成することを試みた。

3. 研究の方法

(1) 分子会合・解離過程を計算するためのマルチスケールシミュレーション手法の開発・利用

分子の離合集散過程は複雑で一般的に全原子分子シミュレーションが追うことができる時間より長い。そのため分子を剛体として扱うブラウン運動計算や剛体球モデルに基づいた理論計算が行われてきたが、このような方法では原子レベルの記述がないため分子の会合・解離がまさに起ころうとしているような状態を適切に扱うことができず、正確な速度定数の評価に影響する。

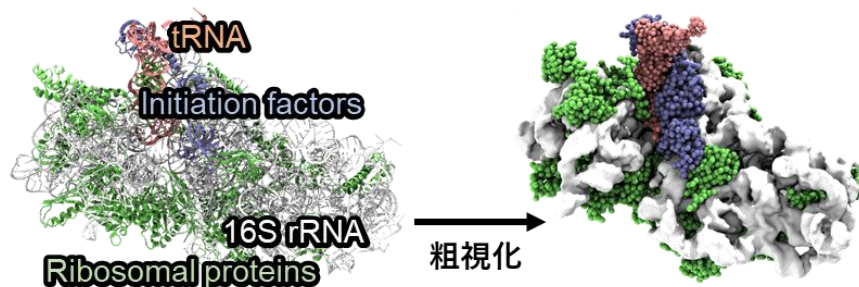
速度定数を決定するために、計算の細かさを下図のように 3 領域に分割する。分子同士が近接している場合は分子動力学(MD: molecular dynamics)シミュレーションを実行する。ある程度距離が離れている場合はブラウン運動(BD: Brownian dynamics)により記述し、さらに距離が離れ相互作用がほぼ球対称となるような領域では拡散方程式が成立しているとする。それぞれの領域で速度定数を決定する。



(2) 粗視化シミュレーションによるリボソームにおける tRNA 解離過程

以上のようなシミュレーションスケールの中で、MD シミュレーションを利用することによりリボソームに存在する tRNA がリボソームから解離するときの自由エネルギー計算を行った。本研究においては、リボソームを構成している分子がどのように tRNA と相互作用することにより tRNA の安定化が実現されているかを分子シミュレーションにより明らかにすることを目的とした。この計算により、研究全体における速度論的な安定性を評価するうえでの基準となる自由エネルギーを理解することが可能となる。さらにリボソームが正しい tRNA 分子をどのように見分けているかを明らかにすることにも資する。

しかしながらリボソームは分子シミュレーションにおいて一般的に扱われる生体分子と比較して巨大である。本研究で扱ったリボソームはタンパク質・RNA 分子の数が 20 を超える複合体であり、全原子分子動力学シミュレーションを実行することは難しい。そのため本研究ではタンパク質・RNA 複合体について、粗視化モデルを用いた MD シミュレーションを実行した（下図参照）。



(3) ブラウン運動シミュレーションによる混雑環境における tRNA 解離

細胞中における分子の会合・解離過程を明らかにするためには、様々な分子が存在する環境中、つまり混雑環境下における分子の動態を理解する必要がある。しかしながら、細胞内環境を模した分子シミュレーションを実行することは粗視化モデルを利用したとしても難しい。そこで本研究課題においては分子を剛体として扱うブラウン運動に基づいて分子の動態および分子の解離時間の計算を行った（右図参照）。分子はブラウン運動により並進と回転の運動を行う。

このような方法を使用し、混雑分子となるタンパク質を多数配置した中における tRNA 等の分子運動を計算し、混雑環境における拡散係数を推定した。本計算により得られた拡散係数を用いて、EF-Tu・tRNA 複合体から tRNA が解離する際の解離時間を計算した。

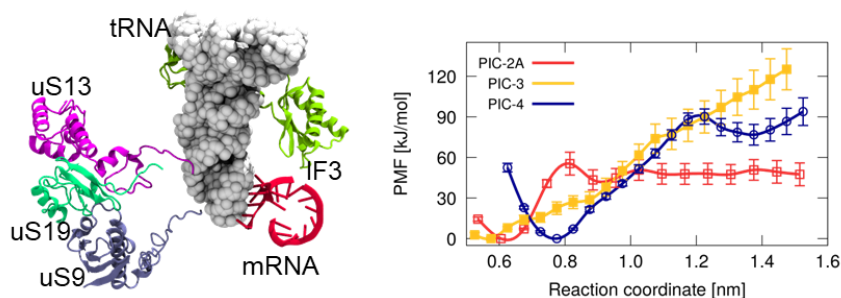
$$\mathbf{r}_i^{n+1} = \mathbf{r}_i^n + \frac{D_i^t}{k_B T} \mathbf{F}_i^n \Delta t + \mathbf{R}_i$$

$$\mathbf{w}_i^{n+1} = \mathbf{w}_i^n + \frac{D_i^r}{k_B T} \mathbf{T}_i^n \Delta t + \mathbf{W}_i$$

4. 研究成果

(1) 粗視化シミュレーションによるリボソームにおける tRNA 解離過程の自由エネルギー計算

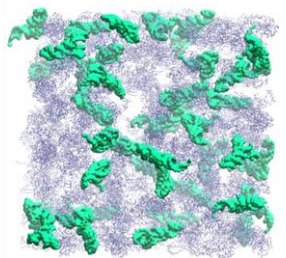
本研究においては、リボソームが開始前複合体の状態にあるときの開始 tRNA の安定化機構を理解することを目的とした。粗視化モデルを使用した MD シミュレーションを実行し、tRNA の解離経路に沿った自由エネルギー解析を行った（下図参照）。この自由エネルギー解析の結果からリボソーム内において tRNA は安定的に存在することが分かった。また tRNA といくつかのリボソームタンパク質の間には相互作用が形成されており、それらの間の静電相互作用は重要であった。リボソームにおいて開始 tRNA は mRNA 等の RNA と相互作用を形成することに加えてリボソームタンパク質と相互作用をすることにより、リボソームからの解離に対して安定的であることが分かった。



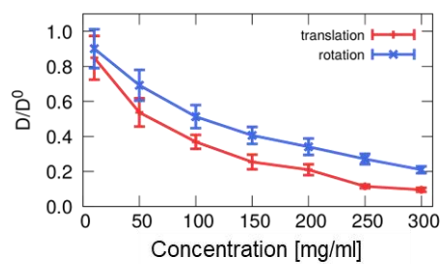
(2) ブラウン運動シミュレーションによる混雑環境における tRNA 解離とその解離時間

本研究ではタンパク質翻訳系を構成する分子である EF-Tu および tRNA を対象として、混雑環境における並進・回転の拡散係数を推定した。系の体積を変化させることで濃度を 10, 50, 100, 150, 200, 250, 300 mg/ml として設定した。本計算におけるシミュレーション系の tRNA と結果は以下の図の通りである。

混雑環境における tRNA 分子



拡散係数の濃度依存性



以上のように得られた拡散係数を用いて、EF-Tu・tRNA 複合体からそれぞれの分子が解離する過程の計算を行った。その結果、低濃度領域（10-150 mg/ml）では拡散係数の逆数に比例した解離時間が得られたが、高濃度領域（200-300 mg/ml）では比例関係から予測されるよりも解離時間が大きくなる傾向が観察された。この現象は細胞内で想定される高濃度条件下において EF-Tu・tRNA 複合体が安定化する可能性を示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Shuya Nakata, Yoshiharu Mori, and Shigenori Tanaka	4. 巻 24
2. 論文標題 End-to-end protein-ligand complex structure generation with diffusion-based generative models	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 BMC Bioinformatics	6. 最初と最後の頁 233
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12859-023-05354-5	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 —

1. 著者名 Shuya Nakata, Yoshiharu Mori, and Shigenori Tanaka	4. 巻 127
2. 論文標題 Anesthetic Binding Induced Motion of GABAA Receptors Revealed by Coarse-Grained Molecular Dynamics Simulations	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 6306-6315
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.jpch.3c01684	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 —

1. 著者名 Kurisaki Ikuo, Tanaka Seiya, Mori Ichiro, Umegaki Toshihito, Mori Yoshiharu, Tanaka Shigenori	4. 巻 44
2. 論文標題 Thermal conductivity and conductance of protein in aqueous solution: Effects of geometrical shape	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Computational Chemistry	6. 最初と最後の頁 857~868
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jcc.27048	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 —

1. 著者名 Nakata Shuya, Mori Yoshiharu, Tanaka Shigenori	4. 巻 —
2. 論文標題 End-to-end protein-ligand complex structure generation with diffusion-based generative models	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 —
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2022.12.20.521309	査読の有無 無
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 —

1. 著者名 Nakata Shuya, Mori Yoshiharu, Tanaka Shigenori	4. 巻 —
2. 論文標題 Anesthetic-Binding Induced Motion of GABAA Receptors Revealed by Coarse-Grained Molecular Dynamics Simulations	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 —
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2023.03.10.530555	査読の有無 無
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9件 (うち招待講演 0件／うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Yoshiharu Mori and Shigenori Tanaka
2. 発表標題 Concentration dependence of protein diffusion coefficients in crowded systems studied by Brownian dynamics simulations
3. 学会等名 34th IUPAP Conference on Computational Physics (CCP2023) (国際学会)
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 森義治
2. 発表標題 翻訳開始過程における開始tRNA認識の分子機構：tRNAとリボソームタンパク質の進化を探索
3. 学会等名 CBI学会2023年大会
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 森義治，田中成典
2. 発表標題 リボソーム翻訳開始前複合体とtRNAとの相互作用におけるリボソームタンパク質の役割
3. 学会等名 第22回蛋白質科学会年会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 森義治, 田中成典
2. 発表標題 Theoretical investigation of the interactions between a tRNA and ribosomal proteins in bacterial translation pre-initiation complex
3. 学会等名 第60回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 森義治, 田中成典
2. 発表標題 生体分子粗視化モデルとアンブレラサンプリングシミュレーションを用いたタンパク質・RNA複合体における自由エネルギー計算
3. 学会等名 第36回分子シミュレーション討論会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 森義治, 田中成典
2. 発表標題 粗視化分子シミュレーションによるリボソームにおけるtRNA解離自由エネルギー計算
3. 学会等名 第15回分子科学討論会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 森義治, 田中成典
2. 発表標題 Free energy profile of tRNA dissociation from ribosome studied by coarse-grained molecular dynamics simulations
3. 学会等名 CBI学会2021年大会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 森義治, 田中成典
2. 発表標題 自由エネルギー計算による翻訳開始段階におけるリボソームとtRNAの相互作用解析
3. 学会等名 スーパーコンピュータワークショップ2021
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 森義治, 田中成典
2. 発表標題 粗視化モデルとアンブレラサンプリングによるリボソームからのtRNA解離過程における自由エネルギー解析
3. 学会等名 日本物理学会第77回年次大会
4. 発表年 2021年～2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

慶應義塾研究者情報データベース
https://www.k-ris.keio.ac.jp/html/100016805_ja.html
 神戸大学 研究者紹介システム
<https://kuid-rm-web.ofc.kobe-u.ac.jp/profile/ja.cc0fd73a426e1176520e17560c007669.html>

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
---------	---------