

A Thesis for the Degree of Ph.D in Engineering

**Molecular Dynamics Simulations of Biomolecular
Interactions toward Multilayered Mechanisms of
Transcriptional Regulation**

March 2026

Graduate School of Science and Technology

Keio University

Ikki Yasuda

主 論 文 要 旨

No.1

報告番号	甲 第	号	氏 名	安田一希
主 論 文 題 名 : Molecular Dynamics Simulations of Biomolecular Interactions toward Multilayered Mechanisms of Transcriptional Regulation (転写制御における多階層的機構の理解に向けた分子動力学法による生体分子相互作用解析)				
(内容の要旨) 転写は、DNA に記録された遺伝情報から RNA を合成する過程であり、遺伝子発現において中核をなすとともに、がんを含む疾患に関与するとされている。DNA 全長のうち、どの領域を、いつ転写するかは、多階層的な制御機構により緻密に制御されている。生体分子の相互作用は細胞内現象の根源であり、転写制御に関しては、生体分子の構造を介した特異的な分子認識と、非特異的な相互作用を介した自己集合現象という二つの現象が、重要な物理化学的基盤である。分子シミュレーションは、こうした生体分子の相互作用を原子・分子レベルで解析する手法であるが、転写の多階層的な制御機構を包括的に理解するための一般的なシミュレーション方法および解析指針は確立されていない。本研究では、転写制御における多階層的機構の理解に向け、分子動力学法により生体分子相互作用を解析する方法論の確立を目的とする。 第 1 章では、生化学的および物理化学的な研究背景と研究目的を述べた。 第 2 章では、分子動力学法の基本的な理論的を述べた。 第 3 章では、特異的な分子認識において、生体分子と小分子の正確な結合性予測が困難であるという課題に対して、結合親和性を正確かつ簡便に予測する新規手法を提案した。転写調節因子である Bromodomain-containing protein 4 の系および、10 種類の阻害剤を結合させた複合体の系に対して全原子分子動力学計算を実施した。深層学習モデルを用いた次元削減法により、タンパク質の結合ポケット付近の構造ゆらぎの違いを抽出することで、抽出した特徴量が結合親和性と強く相関することを示した。 第 4 章では、自己集合現象により形成される転写凝縮体が、既存の粗視化タンパク質モデルのみでは再現されないという課題に対して、新規 RNA モデルを開発した。結合長をはじめとするミクロな物性値をボトムアップ方式、非結合性の相互作用をトップダウン方式により、モデルパラメータを調整した。このモデルは RNA 同士の相互作用と、タンパク質との相分離を準定量的に再現できることを示した。さらに、介在因子 Mediator 1 と RNA を混合した分子動力学計算では転写凝縮体が形成されたとともに、転写凝縮体によるタンパク質分配特性が RNA 濃度に応じて変化することを示した。 第 5 章では、転写凝縮体がもつ分子認識機能の解明に取り組んだ。2 種類の凝縮体 (Mediator 1 の C 末端変性領域および Fused in Sarcoma の N 末端変性領域) に、6 種類の転写因子変性領域を混合した系で粗視化分子動力学計算を実施した。凝縮体と転写因子の相互作用を解析し、転写因子の分配が特定の配列モチーフを介した相互作用エネルギーによって駆動されることを明らかにした。さらに、その分配傾向をアミノ酸配列から予測する手法を開発し、細胞実験で検証されているタンパク質配列セットの分配傾向を定性的に予測できることを示した。 第 6 章では、本研究によって得られた成果を結論としてまとめ、今後の展望を述べた。				

Thesis Abstract

No. _____

Registration Number	☒ “KOU” ☐ “OTSU” No. _____ * Office use only	Name	Ikki Yasuda
Thesis Title Molecular Dynamics Simulations of Biomolecular Interactions toward Multilayered Mechanisms of Transcriptional Regulation			
Thesis Summary Transcription is the process by which RNA is synthesized from the genetic information encoded in DNA, constituting a central step in gene expression and being involved in various diseases, including cancer. The regions of the genome that are transcribed, as well as the timing and extent of transcription, are tightly controlled through multilayered regulatory mechanisms. Biomolecular interactions form the molecular foundation of cellular phenomena. In transcriptional regulation, two fundamental physicochemical principles are particularly important: specific molecular recognition mediated by structural complementarity, and self-assembly phenomena driven by nonspecific interactions. Although molecular simulations enable the analysis of such interactions at atomic and molecular resolution, general simulation and analysis frameworks for comprehensively understanding the multilayered regulatory mechanisms of transcription have not yet been established. The aim of this study is to develop a molecular dynamics simulation framework to elucidate the biomolecular interactions underlying transcriptional regulation. An introduction on the biochemical and physicochemical topics covered in this thesis and the research objectives are presented in Chapter 1. In Chapter 2, the fundamental theories of molecular dynamics simulations are described. We propose, in Chapter 3, a new method to address the challenge of accurately predicting binding affinities between biomolecules and small molecules in specific molecular recognition. Atomistic molecular dynamics simulations of the transcriptional regulator Bromodomain-containing protein 4 were performed, in both its ligand-free form and in ten complexes with various types of inhibitors. Using a deep-learning-based dimensionality reduction approach, local conformational fluctuations of the protein binding pocket were analyzed, consequently extracting features that strongly correlate with binding affinity. In Chapter 4, a new coarse-grained RNA model was developed, to overcome the limitation that transcriptional condensates formed through phase separation cannot be reproduced using existing coarse-grained protein models alone. Model parameters were optimized using a bottom-up approach for bonded interactions and a top-down approach for nonbonded interactions. The model successfully reproduced RNA–RNA interactions and the phase separation of RNA mixed with the RGG domain of a protein, showing semi-quantitative agreement with experimental phase diagrams. Moreover, molecular dynamics simulations of mixtures of the Mediator subunit 1 and RNA demonstrated condensate formation. Further simulations revealed that protein partitioning within condensates varies depending on			

RNA concentration.

An investigation of the mechanisms of specific molecular recognition within transcriptional condensates is presented in Chapter 5. Coarse-grained molecular dynamics simulations were performed for two types of condensates—those formed by the C-terminal intrinsically disordered region of Mediator subunit 1 and the N-terminal intrinsically disordered region of Fused in Sarcoma—and each was mixed with six different transcription factor disordered regions. Analysis of condensate–transcription factor interactions revealed that protein partitioning is driven by interaction energies mediated through specific sequence motifs, such as charged clusters and dispersed aromatic residues. Furthermore, a sequence-based prediction method for partitioning tendencies was developed and shown to qualitatively reproduce experimentally validated protein sets.

A summary of the findings of this thesis and discussion on future perspectives is presented in Chapter 6.