

## ノンコーディング RNA の立体構造を効率的に探索する分子シミュレーション手法の開発

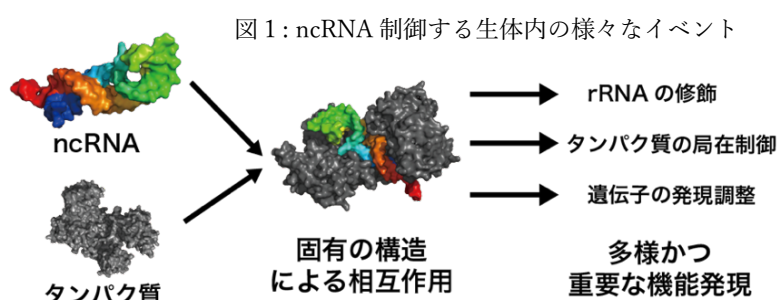
### Developments of Efficient Sampling Methods for Exploring Non-Coding RNA Structures

保田拓範

筑波大学大学院 生物学学位プログラム 博士後期課程

#### 1. 研究目的

ノンコーディング RNA (ncRNA) はタンパク質へ翻訳されずに機能する RNA であり、細胞内で多様かつ重要な調節機能を担っていることが明らかになりつつある。ncRNA



は機能発現の際、タンパク質と同様に固有の立体構造を形成し、他の分子と相互作用したり化学反応を触媒したりする (図1)。また、立体構造の破綻による ncRNA の機能不全は様々な疾患原因になることも知られており、ncRNA の機能を解明する上でその立体構造を明らかにすることは急務である。しかし、RNA は分解されやすい性質を持つため、実験的な取り扱いが非常に難しい。その上、ヒトでは全ゲノムの 90%以上の領域が ncRNA をコードしていることも判明しており、種類は膨大である。以上の理由から、ncRNA の機能解明における構造的アプローチは依然として発展途上である。実験的な証拠として、現在までに決定された RNA の立体構造はタンパク質の 1%程度と圧倒的に少なく、特に 70 塩基以上の構造は 10 個にも満たない。このため、代替アプローチとして計算科学的手法を用いた ncRNA の立体構造探索、機能解明の需要が高まっている。MD は溶液中の生体分子ダイナミクスを原子レベルで追跡できるため、RNA が一本鎖から安定な立体構造に至るプロセスを抽出することで、ダイナミクスを含んだ高解像度の構造探索が実現する。しかしながら、現状で一本鎖から探索が可能な ncRNA は 10 塩基程度の単純な 2 本鎖にとどまる。一方、複雑な立体構造を形成し機能を有する ncRNA は少なくとも 40 塩基程度である。このように、MD は高解像度での構造探索が理論上可能であるにも関わらず、立体構造形成に至るプロセスを追跡する計算コストが増大するため、ncRNA の立体構造探索に従来の MD を適用することは困難である。そこで、改良型の MD を用いることで、ncRNA の効率的な立体構造探索の達成と機能解明における計算科学的アプローチの確立を目的として研究を推進した。

## 2. 研究成果の内容

立体構造を効率的に入手する改良型の MD である Enhanced-sampling (ES) 法は今日まで多様な手法が提案されてきている。本研究では、ncRNA の立体構造を効率的に探索するため ES 法の一つである accelerated MD (aMD) に着目した。aMD は外部からポテンシャルを加えることで、対象の立体構造を効率的に探索できるようになる。そのため、タンパク質に限らず、多様な生体分子への適用が可能である。しかしながら、加えるポテンシャルが強すぎると対象が生体内で取りえない構造をとってしまうという問題点があり、強さを決定するパラメーターのチューニングが難しいという問題があった。そこで、aMD を並列に実行しながら、RNA が生体内で取りうる範囲でポテンシャルを加えることで、パラメーターチューニングを自動化し効率的に ncRNA の立体構造を探索することに成功した。

## 3. 学際共同利用プログラムが果たした役割と意義

本研究で使用した分子動力学計算は生体分子を構成する全ての原子について、運動方程式の時間積分を行なうことで生体分子のダイナミクスを追跡する。そのため、演算を行なう上で必要な計算コストは非常に多く、通常のローカルマシンでは、現実的な時間内で計算を行なうことが難しい。一方で、本プロジェクトで使用するソフトウェアである GROMACS や AMBER は GPU の使用が、大幅な演算速度の上昇に寄与している。そのため、Cygnus に掲載されている GPU を用いることで、本研究提案で使用したような大型の生体分子についても計算することが可能となった。また、本プロジェクトで使用した改良型 MD は独立かつ並列的に計算を実施することで、効率的な構造探索を可能にしている。そのため、計算を行う上でより多くの計算ノードを使用できる Cygnus は必要不可欠であった。以上が、高性能の GPU と多くの計算ノードを有する Cygnus の利用が本プロジェクト推進の上で果たした役割と意義である。

## 4. 今後の展望

開発手法は、これまで開発されてきた様々な改良型 MD と比較して効率的に RNA の構造探索できる可能性を示している。一方で、本年度の研究期間を通して様々な研究知見が得られ、ncRNA の構造を探索するうえで特有の問題点なども浮上してきた。今後は、得られた知見をもとに ncRNA に特化した構造探索法の開発や実際に機能する ncRNA の機能解明を行っていききたい。

## 5. 成果発表

### (1)学術論文

- **Yasuda, T.**, Morita, R., Shigeta, Y. & Harada, R. Protein Structure Validation Derives a Smart Conformational Search in a Physically Relevant Configurational Subspace. *J. Chem. Inf. Model.*, **62**, 6217-6227, doi.org/10.1021/acs.jcim.2c01173 (2022).

- Taketomi T., **Yasuda T.**, Morita R., Kim J., Shigeta Y., Eroglu C., Harada R., Tsuruta F. Autism-associated mutation in Hevin/Sparcl1 induces endoplasmic reticulum stress through structural instability. *Scientific Reports*, <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15784-5>,(2022).
- **Yasuda, T.**, Morita, R., Shigeta, Y. & Harada, R. The Structural Validation by G-factor Regulates Boost Potentials Employed in Conformational Sampling of Proteins. *J. Chem. Inf. Model.* **62**, 3442-3452, [doi.org/10.1021/acs.jcim.2c00573](https://doi.org/10.1021/acs.jcim.2c00573) (2022).

(2)学会発表

- **保田拓範**、森田陸離、重田育照、原田隆平、第 36 回分子シミュレーション討論会 (1003P) 、オンライン 2022 年 12 月
- **保田拓範**、森田陸離、重田育照、原田隆平、第 60 回日本生物物理学会年会(3P-002) 、函館アリーナ、2022 年 9 月

| 使用計算機                       | 使用計算機に<br>○ | 配分リソース※ |      |
|-----------------------------|-------------|---------|------|
|                             |             | 当初配分    | 追加配分 |
| Cygnus                      | ○           | 12600   |      |
| Wisteria/BDEC-01            |             |         |      |
| ※配分リソースについてはノード時間積をご記入ください。 |             |         |      |