

## 遺伝子編集 CRISPR システムと DNA との相互作用機構

### Molecular Dynamics Simulations of Module-Type CRISPR System

宮下尚之

近畿大学 生物理工学部

#### 1. 研究目的

CRISPR Cas 9 をはじめとする遺伝子編集システムは革新的なバイオテクノロジーとして、現在、生命科学・医療・植物・工業などの分野の研究・開発で利用され、近い将来、医療・産業利用される事は確実とされている。一方、遺伝子編集システムは実験研究・開発などでその利用は非常によくなされているが、現状、遺伝子編集機構に関わる基礎研究はあまりなされていない。近年、CRISPR Cas9 のように原核生物の免疫機構を担う CRISPR システムがその遺伝子編集システムとして注目されつつある。そこで、申請者は原核生物の自己免疫システムの一つである CRISPR Type I システムのシミュレーションと、それらと DNA との相互作用を調べた。

#### 2. 研究成果の内容

CRISPR Type I システムの長時間分子動力学シミュレーションを実施した。このシステムは 11 のモジュールとガイド RNA および DNA からできている巨大なシステムである。シミュレーションを実施するにあたって GROMACS と呼ばれる分子動力学プログラムを用いた。力場には DNA および RNA の最新の力場に対応した Amber14sb\_parmbsc1.ff を用いた。細胞中のダイナミクスを想定して、カリウムイオンおよび塩化物イオンを 150mM とした。このシステムは 1,157,800 原子で、100 万原子を超える非常に大きなシステムである。本研究では分子動力学シミュレーションを  $1.5 \mu s$  実施した。このように巨大システムを長時間計算を実施するために、スーパーコンピュータの利用が必要となる。当初予定していた自由エネルギー摂動法(FEP)はその事前解析に時間がかかったために実施しなかった。

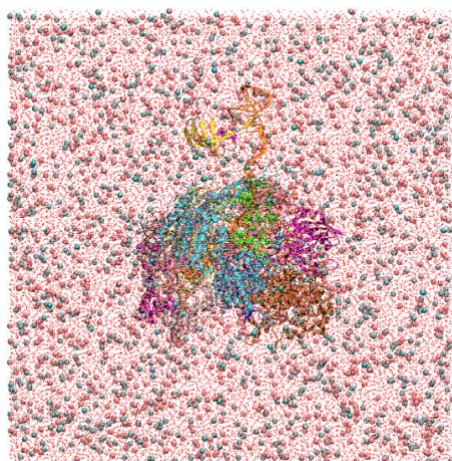


図 1 : CRISPR Type I システムの分子動力学シミュレーション

緩和の影響を省くために、500ns 以降のデータを用いて主成分解析を行った。その結果、第1主成分としてちょうど真ん中の Cas7 をヒンジとする開閉運動、第2主成分として DNA/gRNA を掴む運動が見られた。

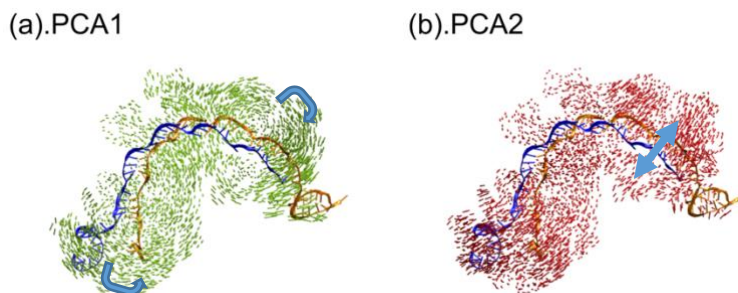


図 2 : (a)第 1 主成分と(b)第 2 主成分の向きを示した

結晶構造からは DNA は 2 つの Cse2 により支えられているように見えたが、シミュレーションによって実際には DNA

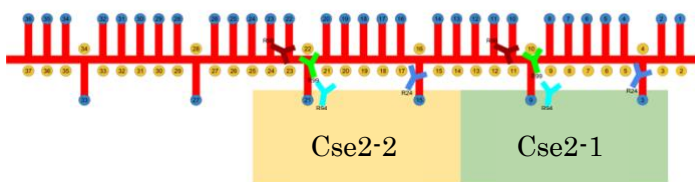


図 3 : CRISPR と DNA の結合

は Cse2 の一部で支えられていることがわかった。更に、この仕組みと揺らぎによりオフターゲットの際に離れやすい仕組みになっている事がわかった。

### 3. 学際共同利用として実施した意義

100万原子を超える巨大システムの  $\mu s$  にも及ぶ長時間計算を実施するためには、どうしてもスーパーコンピュータの利用が必要となる為、利用した意義はあった。

### 4. 今後の展望

今後、解析を進める事で、特に guide RNA にオフターゲット DNA が結合した際にうまく剥がれる機構や、認識機構について調べる。

### 5. 成果発表

(1) 学術論文 なし

(2) 学会発表

- ・(予定)「Dynamics of CRISPR Cas System」○Naoyuki Miyashita\*, Yui Taketomo, Tomohiro Yamaguchi, Lisa Matsukura, Ryo Ohashi, 第 19 回 日本蛋白質科学会年会, 神戸国際会議場 (神戸), 2019 年 6 月 24-26 日
- ・『長時間分子動力学シミュレーションによる CRISPR Type I-E の crRNA 安定化機構とそのダイナミクス』, 竹友唯, ○山口知洋, 古江祐也, 宮下尚之\*, 日本物理学会 第 74 回年次大会, 九州大学 (福岡市), 2019 年 3 月 17 日
- ・「Molecular Dynamics Simulation of Module-Type CRISPR System」, Naoyuki Miyashita, CCS International Symposium 2018 10th symposium on Discovery,

Fusion, Creation of New Knowledge by Multidisciplinary Computational Sciences,  
Tsukuba, Japan, 10/15-16/2018

・『Dynamics of the cleavage of DNA/RNA in module type CRISPR/CAS system by  
using molecular dynamics』, Naoyuki Miyashita\*, Ryo Ohashi, Reiwat Takeuchi,  
Yui Taketomo, 日本生物物理学会第56回年会(岡山市), 2018年9/15-17

(3) その他 なし

使用計算機	使用計算機 に○	配分リソース※	
		当初配分	追加配分
COMA	○	97,040	0
Oakforest-PACS	○	301,860	0
※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。			