

平成 21 年 5 月 11 日現在

研究種目： 基盤研究（C）
 研究期間：2006～2008
 課題番号： 18500227
 研究課題名（和文） タンパク質の二面角系弾性ネットワークモデルによる基準振動解析
 研究課題名（英文） Normal mode analysis of proteins using an elastic network model in dihedral angle space

研究代表者
 輪湖 博（WAKO, Hiroshi）
 早稲田大学・社会科学総合学院・教授
 研究者番号：60158607

研究成果の概要：

タンパク質立体構造の動的特性を明らかにするために、二面角を独立変数とし、弾性ネットワーク近似を取り入れた基準振動解析プログラム PDB η を開発した。これまでわれわれが行ってきた精密モデルによる計算結果や Protein Data Bank（PDB）の温度因子と比較し、評価したところ、この近似計算の妥当性が確認された。このプログラムは、これまでのわれわれの計算では扱えなかった DNA やリガンドなども計算対象とすることが可能であり、しかも、すべての構成原子を考慮しても、その計算時間は比較的短くて済むため、PDB のほとんどのデータに対応することができる。したがって PDB のデータに対して網羅的な計算が可能であり、今後、タンパク質立体構造ダイナミクスデータベース構築やさまざまなタンパク質間の比較研究に役立つものと期待できる。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,200,000	0	1,200,000
2007 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	720,000	4,320,000

研究分野： 総合領域

科研費の分科・細目：情報学・生体生命情報学

キーワード：タンパク質立体構造のダイナミクス；基準振動解析；PDB；データベース

1. 研究開始当初の背景

21 世紀に入り多くの生物種のゲノムが解読されるようになり、一つの生物種のすべての遺伝子が推定され、そこから転写・翻訳されるタンパク質のアミノ酸配列情報が大量に得られるようになった。これによって、生命のもつ遺伝情報の全容が解明されると期

待されているが、現時点では、そうして得られたタンパク質の機能に関して、既知の相同なタンパク質がある場合を除いては、あまり多くの情報を得ることができず、全容解明までには解決しなければならない多くの課題があることが改めて浮き彫りになった。その重要課題の一つが、アミノ酸配列から機能がどのように決まるのか、その分子科学的メカ

ニズムを明らかにすることであり、その解明が強く期待されていた。

タンパク質の機能発現の分子科学的メカニズムを理解するためには、そのアミノ酸配列によって決まる特異的な立体構造との関連で議論する必要がある。タンパク質の立体構造研究においては、Protein Data Bank (PDB) に登録されたデータがその基盤であり、すでに6万件を超える登録がある。研究者はそのデータと実験を、あるいは理論を突き合わせながら課題に取り組んでいるが、立体構造と機能の関係を明らかにするためには、単にPDBで与えられる静的な立体構造だけではなく、その動的特性を明らかにすることが不可欠である。残念ながら、PDBには動的構造に関する情報は原子のゆらぎの大きさを表す温度因子が与えられているに過ぎない。したがって、動的特性を明らかにするためには、PDBのデータを利用して分子力学的な計算によってそうした情報を抽出することが必要であり、そのためのよりよい解析手法開発が求められていた。

更に、生命科学には物理学のような第1原理が存在しないとよく言われるが、進化の結果として現存する生物種、そしてそれを構成するタンパク質を理解するためには、生物種間の比較、タンパク質間の比較研究が重要である、あるいはそうした比較を通してしか導くことのできない論理があることが示唆されてきた。DNAの塩基配列データやタンパク質立体構造データの蓄積は急速に進んでおり、タンパク質ダイナミクスの研究も、それら膨大なデータを見渡し、比較することを念頭においた解析手法開発が重要と考えられるようになっていた。

2. 研究の目的

(1) タンパク質立体構造の動的構造

上で述べたように、タンパク質立体構造の動的構造を明らかにすることは、その構築原理や機能発現のメカニズムを理解する上できわめて重要である。われわれはこれまで、Protein Data Bank (PDB) に登録された立体構造データに分子力学的な計算を適用し、その動的構造を明らかにすることをめざしてきた。PDBデータが与える静的な立体構造情報は、それだけでも多くの知見を提供してくれるが、そこから動的構造に関する情報を引き出すことができれば、タンパク質立体構造の構築原理や機能発現のメカニズムに関してもっと多くの知見が得られるはずだからである。しかし生のPDBデータには、温度因子によって各原子の揺らぎの大きさの情報が与えられているものの、運動の具体的な様相(各原子の運動の方向性や、原子間の運動

の相関、動的な意味合いでのドメイン構造およびドメイン間の相対運動、二面角の揺らぎなど)に関しては何も含まれていない。そのため、PDBデータをもとにした分子力学計算を行い、動的構造に関する知見をそこから引き出す作業が必要となる。

たとえば、タンパク質と基質、タンパク質とDNA、あるいはタンパク質とタンパク質の相互作用に関して、接触面がどこで、どのアミノ酸残基同士が相互作用しているかなどの幾何学的情報はPDBデータから直接引き出すことができるが、さらに分子力学計算によって、タンパク質単独のときと複合体形成時の立体構造の揺らぎの変化などを調べることができれば、それらの揺らぎの違いから、分子間相互作用に関するより深い描像を導き出すことが可能となる。

また、タンパク質分子内部のアミノ酸残基間の相互作用のネットワーク構造の特徴を明らかにすることは、タンパク質立体構造の構築原理を理解する上で有用な知見を提供してくれるであろう。ここでも、空間的に隣接するアミノ酸残基間をつなぐネットワークという静的な描像だけでなく、たとえば、揺らぎの中で正の相関をもって運動する残基対が作り出すネットワーク構造に注目すれば、動的構造の成り立ちがより明確に示されると期待できるであろう。

本研究では、基準振動解析という手法を用いてタンパク質の動的構造の問題にアプローチすることをまず大きな目標として掲げている。ここでは、特定のタンパク質について詳細に解析するというよりも、より多くのタンパク質について解析する手法を開発し、多くのタンパク質の解析から総合的に得られるタンパク質立体構造の動的構造の特性を議論できるような方法論的な基礎をまずは築きたいと考えた。

(2) 簡易動的構造解析ツールとしての基準振動解析ソフトの開発

最近、分子動力学(MD)シミュレーションはかなり一般的なものとなってきた。しかし、豊富なコンピュータ資源(高いコンピュータ性能、長時間の計算など)が必要であり、誰でもが気軽に実行できるというわけでもない。一方、タンパク質の基準振動解析も、その計算の特殊性のためか、手軽に解析のできる計算ソフトが普及しておらず、あまり身近な存在とは言い難い。しかし、以下で述べるような二面角系弾性ネットワークモデルによる基準振動解析ソフトを開発すれば、普通のパソコンで、誰もが気軽に基準振動解析計算を行い、その結果を視覚化して眺めることができる。

タンパク質の立体構造の静的構造図が、タ

タンパク質の理解に大きく貢献したように、手軽にタンパク質の動的構造（ここでは揺らぎ）を観察できるソフトを提供することは、タンパク質研究に大きく貢献できると思われる。そのためにも、分子科学計算に馴染みのないタンパク質研究者がパソコンで使える簡易動的構造解析ツールとしての基準振動解析ソフトの開発を本研究では目指した。

3. 研究の方法

(1) 基準振動解析

タンパク質の動的構造を分子力学的計算で調べる方法としては、MD が一般的である。しかし、長時間にわたる計算を必要とし、多くのタンパク質についてその動的構造を解析し、比較研究するには不向きである。本研究では、PDB に登録された数多くの（できれば網羅的に）タンパク質について計算を実行し、比較解析や統計的解析を行うことを考えている。そのために、われわれは基準振動解析を採用した。基準振動解析は、極小構造周辺の小さな揺らぎにその解析が限定され、構造空間をより広範囲に探索する MD に比べれば解析精度は落ちるものの、その結果と MD の結果との対応は定性的には極めてよいことが示されている。さまざまな物理量の時間平均を求める解析的な式が与えられており、系統的に計算を進めるにも基準振動解析は都合がよい。また、最終的には MD によってより精度の高い計算を行うにしても、多くのタンパク質に対する予備的計算としての利用価値もあるであろう。

(2) 研究方法の特色

二面角系

本研究の特色の一つは、ほとんどの分子力学計算ソフトがデカルト座標を独立変数としているのに対して、二面角を採用している点にある。二面角を独立変数にすると、数学的構造が極めて複雑になり、ソフト開発が難しくなるため敬遠される傾向にある。しかし、その数学的な難しさに取り組むことを厭わなければ、独立変数の数を大きく減らすことが可能であり、タンパク質のような大きな系を扱うとき、そして少ないコンピュータ資源で計算を行いたいと思うとき、大きなメリットとなる。

われわれは、FEDER という二面角系の分子力学計算ソフトを開発、発展させてきた経験があり、それが本研究の基盤にある。

基準振動解析データベース PrdMode

上で述べたように、基準振動解析計算は多くのタンパク質に対して実行し、比較解析し

たり、統計的解析を行うのに適している。そこでわれわれは、全原子モデルで基準振動解析を実行し、その結果を蓄積した PrdMode (<http://promode.socs.waseda.ac.jp/>) と名づけたデータベースを構築し、インターネット上で公開している。一つ一つの計算時間がかかるため、残念ながら、利用者の要求に応じていかなるタンパク質についても直ちに計算を実行する、というわけにはいかず、あらかじめこちらで計算した結果だけを公開しているが、すでに 3,000 を超える解析データを公開している。こうした実績が本研究の背景にある。

弾性ネットワークモデル

分子科学計算に馴染みのないタンパク質研究者がパソコンで使える簡易動的構造解析ツールとしての基準振動解析ソフトの開発を考えると、従来の精度の高い計算は現在のコンピュータの能力からして諦めなければならない。そこで、弾性ネットワークモデルを採用することとした。このモデル自身は、立体構造エネルギー極小化の過程を省くことができることから、すでに多くの研究者が簡易的計算法として採用している。しかしそのほとんどが、原子のデカルト座標を独立変数としている。これに対してわれわれは、二面角を独立変数とする点が特色の一つとなっている。これによって、全原子を考慮してより大きなタンパク質を扱うことが可能となり、タンパク質以外の分子もより容易にモデルに組み込むことが可能となる。

4. 研究成果

本研究課題の成果をまとめると以下の通りである。

(1) 弾性ネットワークモデルによる基準振動解析計算プログラムの開発

GUI (Graphical User Interface) をもつ弾性ネットワークモデルによる基準振動解析計算プログラム PDB η (PDBeta: Elastic network model in Torsional Angle space using PDB data) を開発した (図 1)。これにより、PDB データを入力とし、後はメニューに従ってパラメータの設定、希望する計算の選択などを行えば、容易に基準振動解析計算を実行することが可能となった。

開発にあたっては、基準振動解析計算の核となる部分は、これまでの精密モデルでの計算手法の簡単な補正で対応できたが、むしろ、入力データとなる分子構造記述データの自動生成アルゴリズムの開発に多くの時間を費やした。二面角系では、分子構造をグラフ理論でいうところのノード (点) とエッジ

(辺)からなるツリーで表現する必要があるが、タンパク質だけでなく、DNA やリガンド分子を含むすべての PDB データに対応できるように考慮した。

得られた結果は、EXEL などの表計算ソフトに読み込んでグラフを描いたり、jV や Chime などの分子描画ソフトを使って、タンパク質や DNA などの分子が振動する様子をアニメーションで表示し、観察することができるようにした。



図1 基準振動解析計算プログラム PDBeta のトップページ

(2) PDBeta による基準振動解析計算

弾性ネットワークモデルの妥当性を調べるため、より精密な計算を行った *PrdMode* に蓄積されたデータと比較した。原子の揺らぎ、二面角の揺らぎの相関をとると、相関係数 0.6 以上の非常に高い値が得られた。また、PDB の温度因子から得られる原子の揺らぎとの相関も 0.6 前後の高い値が得られ、弾性ネットワークモデルによる計算の妥当性が示された (図2)。

その後、PDBeta を用いて、いくつかの PDB データに対して基準振動解析計算を実行した。これまで *PrdMode* では計算できなかった DNA、RNA、リガンド、ヘムなど含む系について基準振動解析計算を実行し、温度因子データと比較して計算結果の妥当性を調べ、またその揺らぎの様相を解析した。特に DNA や RNA については、糖環のパッカリングの影響について調べ、パッカリングを考慮することで、温度因子とより良い相関が得られることがわかった。また、これまで計算できなかった DNA とタンパク質との複合体についても、それぞれの分子単独での解析と複合体での解析を行い、その比較から、複合体形成について多くの知見を得ることができた (図3)。

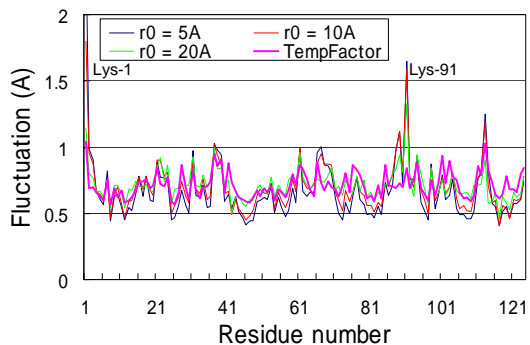


図2 ポテンシャル関数のパラメータを変え、PDB の温度因子との相関を調べた例。タンパク質はリボヌクレアーゼ。外に向かって突き出した Lys-1、Lys-91 を除き、よい相関をもっていることがわかる。

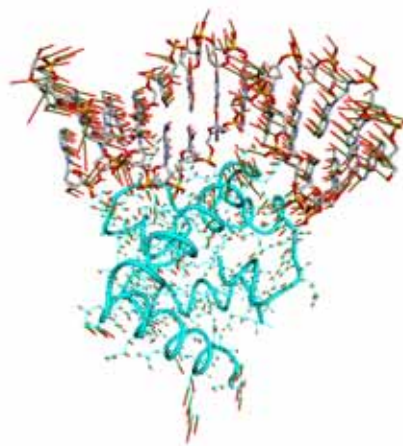


図3 DNA 結合タンパク質の基準振動解析の例。最低振動数モードの揺らぎの様相を、変位ベクトルで示した。

(3) 基準振動解析で得られる正の相関もつアミノ酸残基対が作るネットワークの解析

PrdMode に登録されたデータを用いて、各アミノ酸 (ただし、 $C\alpha$ 原子で代表する) をノード (点)、揺らぎで正の相関をもつアミノ酸残基間を結ぶ線をエッジ (辺) とするグラフを考え、そのグラフが表現するネットワークがどのような特徴をもつか、ネットワーク解析の観点から調べた。タンパク質の大きさやフォールディング・タイプの違いなどで分類しながら解析を行った。また、動的ドメイン、運動の相関距離についても解析し、いろいろなタンパク質に共通する特性を明らかにした。

(4)今後の展望

本研究課題で開発したプログラム PDB η は、これまでのわれわれの計算では扱えなかった DNA やリガンドなども計算対象することが可能であり、しかも、すべての構成原子を考慮しても、その計算時間は比較的短くて済む。そのため、PDB のほとんどのデータに対応することができるであろう。したがって PDB のデータに対して網羅的な計算が可能であり、今後、タンパク質立体構造ダイナミクスのデータベース構築やさまざまなタンパク質間の比較研究に役立つものと期待できる。

また、創薬の世界においても、あるタンパク質に結合する化合物の検索システムの開発は重要課題の一つとなっており、やはり、静的な構造との適合性だけでなく、立体構造の揺らぎを考慮した適合性を調べることの必要性が指摘されている。簡易的に計算のできる基準振動解析法を利用する研究も始まっており、PDB η はこうした分野でも役立つと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計 15 件)

- (1) 輪湖博、猿渡茂、「二面角系での弾性ネットワークモデルによる基準振動解析の評価」、日本生物物理学会第 46 回年会、2008 年 12 月 3 日、福岡県福岡市
- (2) 猿渡茂、輪湖博、「基準振動解析における結合モードに基づくタンパク質複合体動的構造の分類」、日本生物物理学会第 46 回年会、2008 年 12 月 3 日、福岡県福岡市
- (3) 廣瀬修一、横田恭宣、輪湖博、猿渡茂、黒田裕、金井理、野口保、「アミノ酸配列情報を用いた蛋白質運動性の予測」、第 8 回日本蛋白質科学会年会、2008 年 6 月 10 日、東京都江戸川区
- (4) 猿渡茂、佐々木彰吾、輪湖博、「タンパク質複合体の基準振動における結合モードの解析」、第 8 回日本蛋白質科学会年会、2008 年 6 月 10 日、東京都江戸川区
- (5) 輪湖博、猿渡茂、「二面角系での弾性ネットワークモデルによる基準振動解析」、第 8 回日本蛋白質科学会年会、2008 年 6 月 11 日、東京都江戸川区
- (6) 輪湖博、富澤裕樹、猿渡茂、A stand-alone application for users to perform normal mode analyses of protein using data from ProMode、The sixth Asia-Pacific Bioinformatics Conference、2008 年 1 月 15 日、京都府京都市
- (7) 廣瀬修一、横田恭宣、黒田裕、輪湖博、

金井理、野口保、「アミノ酸配列からのタンパク質の構造揺らぎ領域の予測」日本生物物理学会第 45 回年会 2007 年 12 月 21 日、神奈川県横浜市

(8) 輪湖博、富澤裕樹、猿渡茂、「ProMode を利用したタンパク質の基準振動解析プログラムの開発」、日本生物物理学会第 45 回年会、2007 年 12 月 23 日、神奈川県横浜市

(9) 猿渡茂、輪湖博、「蛋白質 2 分子複合体の基準振動の包括的解析」、日本生物物理学会第 45 回年会、2007 年 12 月 23 日、神奈川県横浜市

(10) 輪湖博、富澤裕樹、猿渡茂、「ProMode ユーザーのための基準振動解析プログラムの開発」、第 7 回日本蛋白質科学会年会、2007 年 5 月 25 日、宮城県仙台市

(11) 猿渡茂、輪湖博、「立体構造不定領域のあるタンパク質の動的構造の解析とデータベース ProMode への取り込み」、第 7 回日本蛋白質科学会年会、2007 年 5 月 25 日、宮城県仙台市

(12) 輪湖博、猿渡茂、Dynamic structures of proteins characterized by networks formed by connecting positively correlated residues in normal mode vibrations、日本生物物理学会第 44 回年会 & Fifth East Asian Biophysics Symposium、2006 年 11 月 12 日、沖縄県那覇市

(13) 猿渡茂、輪湖博、Normal mode analyses of multimeric proteins with symmetry in dihedral angle space、日本生物物理学会第 44 回年会 & Fifth East Asian Biophysics Symposium、2006 年 11 月 12 日、沖縄県那覇市

(14) 田村翔平、寺本やえみ、甲藤二郎、輪湖博、Structural alignment with Delaunay codes characterizing local structures and structural motifs identified by the alignment、日本生物物理学会第 44 回年会 & Fifth East Asian Biophysics Symposium、2006 年 11 月 12 日、沖縄県那覇市

(15) 猿渡茂、柳田直人、輪湖博「T4 リゾチーム変異体における動的構造 - 活性相関」第 6 回日本蛋白質科学会年会、2006 年 4 月、京都府京都市

[図書](計 2 件)

(1) 早稲田大学複雑系高等学術研究所編『複雑系の構造と予測』(共立出版): 輪湖博、安部晴男、「タンパク質分子の立体構造転移」59-97 頁、2006 年

(2) 日本バイオインフォマティクス学会編、『バイオインフォマティクス事典』(共立出版): 輪湖博、「構造エネルギー最適化法」、624-626 頁、「基準振動解析」、631-633 頁、2006 年

〔その他〕

(1) タンパク質立体構造の基準振動解析データベース ProMode、
URL: <http://promode.socs.waseda.ac.jp/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

輪湖 博 (WAKO HIROSHI)
早稲田大学・社会科学部・教授
研究者番号：60158607

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

猿渡 茂 (ENDO SHIGERU)
北里大学・理学部・准教授
研究者番号：00265729