

平成21年6月22日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19700279
 研究課題名（和文） 自由エネルギー地形解析による異常プリオンタンパク質のフォールディング原理の解明
 研究課題名（英文） Free Energy Landscape Analysis of Prion Protein
 研究代表者
 関嶋 政和（SEKIJIMA MASAKAZU）
 独立行政法人産業技術総合研究所・生命情報工学研究センター・研究員
 研究者番号：80371053

研究成果の概要：

大規模シミュレーションを実行することで、慣性半径(Rg, Radius of gyration)と初期構造からの RMSD (Root Mean Square Deviation) に対しての自由エネルギー地形を求め、マウスとウシのプリオンタンパク質に自由エネルギー最小な状態の他に、構造転換の中間状態となり得る準安定状態が存在することを示した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	900000	0	900000
2008年度	800000	240000	1040000
年度			
年度			
年度			
総計	1700000	240000	1940000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報学

キーワード：コンピュータシミュレーション

1. 研究開始当初の背景

プリオンタンパク質は生体内にあってその機能が未だ明らかになっていないタンパク質である。プリオンタンパク質の α ヘリックス構造が多い正常な立体構造がミスフォールドを起こして β シート構造が多い異常構造に転換しアミロイド化することが、狂牛病、スクレイピー、クロイツフェルト・ヤコブ病などのプリオン病を引き起こす原因とされている。しかしながら、この構造転換がどのよう

にして起き、プリオン病を引き起こすかは明らかになっていない。また、NMR と X 線結晶解析により正常プリオンタンパク質の構造の一部が決定されているものの、実験的に疾病に重要であると確認されている領域の一部は揺らいでいる為に決定されていない。プリオンタンパク質の分子シミュレーションによる解析では、NMR によってシリアンハムスター由来のプリオンタンパク質（C 端側の 104 残基分）の構造決定が為されて以来、複数のグ

ループにより研究が行われてきた。プリオンタンパク質に関する最初のシミュレーションが Zuegg ら(Zuegg *et al.*, *Biochemistry*, 38, pp.13862-13876, 1999)により行われて、プリオンタンパク質における溶媒効果の議論が行われ、Alonso ら(Alonso *et al.*, *PNAS*, 98, pp.2985-2989, 2001)が酸性環境におけるプリオンタンパク質の β シート化を示したほか、沖本ら(Okimoto *et al.*, *Biophys. J.*, 82, pp.2746-2757, 2002) が Ala117Val 変異による β シートの伸張を示している。また、提案者ら(業績 4, 5)は単量体と二量体のダイナミクスから安定性の違いを議論し、野生型(102Pro)とプリオン病を引き起こす変異型(102Leu)が同じ初期構造から異なるフォールドに至ることを示している(業績 3)。桑田ら(Kuwata *et al.*, *PNAS*, 100, pp.14790-14795, 2003)は複数のマウス 106-126 残基を並べてシミュレーションすると β シート構造を形成することを示した。

提案者らは最近、様々な生物種由来のプリオンタンパク質について、 β シート形成を特に促成する酸性環境でのシミュレーションを行った。プリオン病を発病することが確認されているウシ、ヒト、ネコでは β シートが伸張する一方で、プリオン病の発症が確認されていないイヌにおいては β シート形成が為されないというデータを得ており、このことは分子シミュレーションによりタンパク質の定性的な熱揺らぎの違いを捉えられたものと言える。

しかし、いずれも 10~20 ナノ秒以下のシミュレーションであり、Gspomer ら(Gspomer *et al.*, *PNAS*, 100, pp.5154-5159, 2003)は、10~20 ナノ秒以下のシミュレーションは *in vitro* 実験で 1 マイクロ秒相当の熱揺らぎしか観測できていないことを示している。また、10~20 ナノ秒以下のシミュレーションはい

ずれも定性的な“傾向”の議論のみである。生体分子の熱揺らぎや安定性を理解するために、自由エネルギー地形の表現を用いた研究が行われてきた。自由エネルギー地形の解析については、20 残基程度のタンパク質、ペプチドに関して国内外で行われている(Garcia *et al.*, *PNAS*, 99, pp.2782-2787, 1997; Kamiya *et al.*, *Protein Science*, 11, pp.2297-2307, 2002; Krivov *et al.*, *PNAS*, 101, pp.14766-14770, 2004; Ikeda *et al.*, *Protein Science*, 14, pp.1253-1265, 2005)。例えば、Zhou ら(Zhou *et al.*, *PNAS*, 94, pp.14429-14421, 1997)は3本のヘリックスによって構成されるタンパク質のフォールディングについて粗視化したモデルを用いて自由エネルギー地形を求めた。この自由エネルギー地形は、慣性半径と自由エネルギーの二次元の描写であったが、アンフォールディングからフォールディングへの傾斜から、ローカルミニマムの存在やそのエネルギー障壁の大きさが求められることを示した。

2. 研究の目的

本提案では、フォールディングの自由エネルギー地形とフォールディング経路解析から、正常プリオンタンパク質が異常プリオンタンパク質に構造転換する原理を、明らかにすることを目的とする。

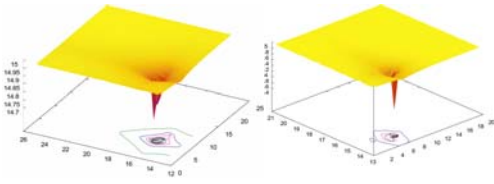
この目的で具体的に行うことは、生体分子の自由エネルギー地形解析システムの開発とこのシステムをプリオンタンパク質に適用して、自由エネルギー地形解析を行うことである。

3. 研究の方法

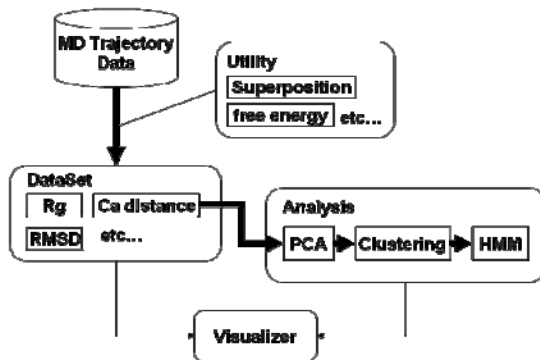
自由エネルギー地形は、ある温度における多次元空間での自由エネルギーの分布を表示したものである。本提案では、フォールディング過程を解析する為にヒストグラム法を用いて自由エネルギーを次の式で求める。 $E = -kT \ln(n/N)$ 。つまり、構造空間全体においてある構造が存在する確率が高いとき、エネルギー値は低くなる。本研究で描画する自由

エネルギー地形は、全て三次元の等高線で示される。

4. 研究成果

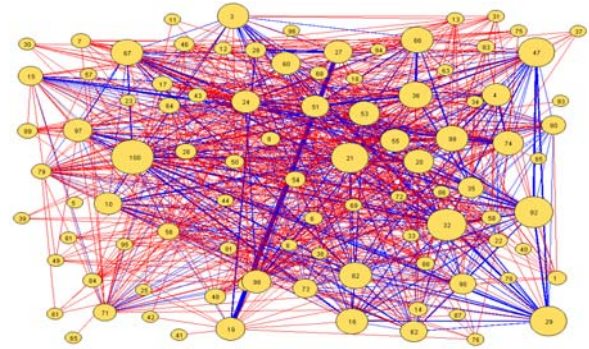


生命情報科学研究センターに導入された Blue Protein System (Blue Gene 4 ラック、8192CPU)を用いて行った最新の生体分子シミュレーションより、マウスとウシのプリオンタンパク質に関して、大規模シミュレーションを実行することで、慣性半径(Rg, Radius of gyration)と初期構造からの RMSD (Root Mean Square Deviation) に対しての自由エネルギー地形を求め、マウスとウシのプリオンタンパク質に自由エネルギー最小な状態の他に、構造転換の中間状態となり得る準安定状態が存在することを示した。



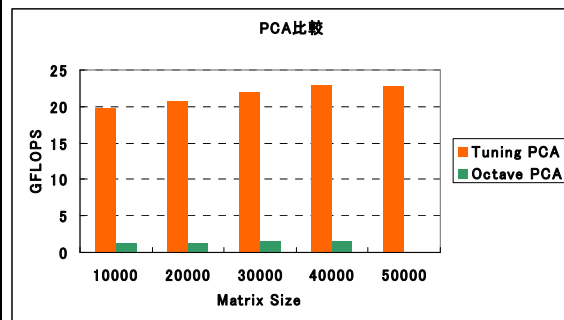
また、タンパク質のフォールディング経路を解析するために、確立モデルの一つである隠れマルコフモデルを用いた。隠れマルコフモデルは、「システムがパラメータ未知のマルコフ過程である」と仮定し、観測可能な情報からその未知のパラメータを推定することができる。本提案においては、分子動力学シミュレーションで得られたトラジェクトリデータをいくつかの構造に分類し、HMM(隠れマルコフモデル)による解析を行

うことで、タイムステップ毎の時系列遷移からは解析が難しい、タンパク質の熱揺らぎのパターン解析を提案した。



また、マイクロ秒に及ぶシミュレーションにより得られた膨大なデータを円滑に解析することができる一貫したシステムの開発も行った。

さらに、 1μ 秒に及ぶ大量のトラジェクトリの場合、20 フェムト秒ごとのタイムステップでサンプリングを行ったとしても 50,000 構造ファイルになる。そのため、主成分分析 (PCA)を行うのに、 50000×50000 の行列 = 10GByte が必要になり、ボトルネックとなる。そこで、対角化の際に QR 法・Householder 変換による高速化を実装し、liboctave を使用した場合に対して 11.9 倍の性能を得た。



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)

[雑誌論文] (計 9 件)

- ① S. Honda, T. Akiba, Y. Kato, Y. Sawada, M. Sekijima, M. Ishimura, A. Ooishi, H. Watanabe, T. Odahara, H. Kazuaki, "Crystal Structure of a Ten-Amino Acid Protein", Journal of the American Chemical Society, accepted
- ② J. Ikeda, K. Ohno, S. Akioka, M. Orita, Y. Muraoka, T. Noguchi, M. Sekijima, "Large Scale Computing for Protein-Protein Binding Free Energy Calculation", In Proceedings of the 2008 International Conference on Parallel and Distributed Processing Techniques and Applications (PDPTA 2008), pp.771-775.
- ③ S. Tokunaga, K. Ikeda, S. Honda, Y. Sawada, Y. Muraoka, T. Noguchi, M. Sekijima, "State transition probability analysis of protein folding based on large scale molecular dynamics simulation", In Proceedings of the 17th IASTED International Conference on Applied Simulation and Modelling (ASM2008), pp.164-169, 2008.
- ④ M. Sekijima, J. Doi, S. Honda, T. Noguchi, and S. Shimizu, and Y. Akiyama, "Free Energy Landscape Analysis System based on Parallel Molecular Dynamics Simulation", IPSJ Transaction on Bioinformatics, Vol.48 No.SIG17(TBIO3), pp.30-39, 2007.
- ⑤ S. Kimura, M. Sekijima, M. Takata, T. Noguchi, and K. Joe, "Development of Molecular Dynamics Simulation based Flexible Docking System", In Proceedings of the 2007 International Conference on Parallel and Distributed Processing Techniques and Applications (PDPTA 2007), pp.739-745, 2007.
- ⑥ M. Sasaki, M. Sekijima, M. Takata, and K. Joe, "Optimization of Molecular Dynamics Simulation on Cell Processor", In Proceedings of the 2007 International Conference on Parallel and Distributed Processing Techniques and Applications (PDPTA 2007), pp.780-786, 2007.
- ⑦ M. Nakazawa, M. Takata, K. Yokota, T. Noguchi, M. Sekijima, and K. Joe, "Development of SVM based Prediction System for Metalbinding Sites in

Protein", In Proceedings of the International Conference on Parallel and Distributed Processing Techniques and Applications (PDPTA 2007), pp.972-978, 2007.

- ⑧ J. Doi, K. Shimizu, and M. Sekijima, "High-Density Surface Reconstruction of Fine Arts and Documents for Complete Reproduction and Counterfeit Detection", In Proceedings of the 2007 IEEE International Conference on Networking, Sensing and Control (ICNSC2007), pp.392-397, 2007.
- ⑨ M. Sekijima, J. Doi, T. Noguchi, and S. Shimizu, "Optimization and Evaluation of Parallel Molecular Dynamics Simulation on Blue Gene/L", In Proceedings of the IASTED International Conference on Parallel and Distributed Computer and Networks (PDCN2007), pp.257-262, 2007.

[学会発表] (計 2 件)

- ① 関嶋政和、本田真也、野口保、「超並列計算機を用いた生体分子解析 - 疾病関連蛋白質解析と世界最小蛋白質設計への応用 -」, 次世代スーパーコンピューティング・シンポジウム 2007, 2007, 東京.
- ② M. Sekijima, C. Motono, Y. Akiyama, and T. Noguchi, "Free Energy Landscape Analysis of Prion Protein", 51th Biophysical Society Annual Meeting, 2007, Baltimore.

[その他]

招待講演

- ① M. Sekijima, "Application of HPC to the analysis of disease related protein and the design of novel proteins", Hardware and software for large-scale biological computing in the next decade, 2007, Okinawa

研究会報告

- ① 木村紗知、戸田幹人、関嶋政和、高田雅美、野口保、城和貴「タンパク質立体構造における時系列特徴抽出」情報処理学会研究会報告, 2009-MPS-73, pp. 97-100, 2009, 沖縄
- ② 中澤昌美、高田雅美、横田恭宣、野口保、関嶋政和、城和貴「SVM を用いた生体分子への金属結合部位予測手法の提案」2009-MPS-73, pp. 213-216, 2009, 沖縄
- ③ 徳永慎一、関嶋政和、村岡洋一、野口保「確率的情報処理による生体分子の熱揺

らぎ解析に関する研究」情報処理学会研究会報告，2007-BI0-11, pp. 275-280, 2007, 東京

- ④ 池田潤一、関嶋政和、村岡洋一、野口保
「分子動力学法を用いたタンパク質・リガンドの相互作用解析」情報処理学会研究会報告，2007-MPS-67, pp. 143-146, 2007, 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

関嶋 政和

**独立行政法人産業技術総合研究所・生命情報
工学研究センター・研究員**

研究者番号：80371053