

平成 22 年 6 月 2 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20760174

研究課題名（和文）ロボット機構の運動学の視点に基づくタンパク質の内部運動特性の解析

研究課題名（英文）Analysis of Protein Internal Motion from Viewpoint of Robot Kinematics

研究代表者

有川 敬輔（ARIKAWA KEISUKE）

神奈川工科大学・工学部・准教授

研究者番号：50350674

研究成果の概要（和文）：ロボット機構の運動学解析手法を応用して、タンパク質の内部運動特性の概略を予測する方法について研究を行った。まず、計算機内に人工的に生成した簡易的なモデルを用いて、構造のゆらぎや外力による変形を解析するための方法を検討した。この解析方法を、実際のタンパク質（ラクトフェリン）の3次元構造データに適用し、その内部運動特性を解析したところ、計測により明らかにされている特性と適合する結果が得られた。

研究成果の概要（英文）：We investigated algorithms for calculating the characteristics of the internal motion of proteins from a view point of robot kinematics. First, by using simplified artificial protein model, we derived algorithms for analyzing conformational fluctuation and force response. Then, we analyzed the internal motions of a real protein (Lactoferrin) by applying the algorithms to its three dimensional structural data, and obtained results which agree to the known measured internal motions.

交付決定額

（金額単位：円）

|        | 直接経費      | 間接経費    | 合 計       |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2008年度 | 500,000   | 150,000 | 650,000   |
| 2009年度 | 600,000   | 180,000 | 780,000   |
| 年度     |           |         |           |
| 年度     |           |         |           |
| 年度     |           |         |           |
| 総 計    | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |

研究分野：ロボット工学

科研費の分科・細目：機械工学 ・ 知能機械学・機械システム

キーワード：タンパク質，内部運動，ロボット機構，運動学

## 1. 研究開始当初の背景

タンパク質は、化学反応の触媒（酵素反応）、信号伝達、免疫機構等、生命現象の根幹を担う機能を提供している。個々のタンパク質は、図1に示すように、20種類のアミノ酸を数十から数千個、直鎖的に結合して構成されており、それを複雑に折り畳んだ固有の立体構

造（天然状態）を持っている。この立体構造は剛直なものではなく柔軟性を有し、ある範囲で絶えず変形、つまり、内部運動をしながら、他の分子と相互作用を繰り返している。タンパク質が上記機能を発現するには、この内部運動が不可欠であり、タンパク質の内部運動特性を理解することは生命現象を理解する上で極めて重要である。

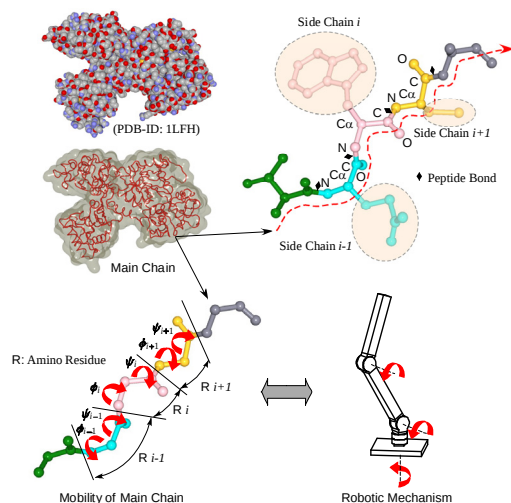


図1 タンパク質の基本構造とロボット機構

プロテインデータバンク (PDB) には多くのタンパク質の3次元構造データが登録されている。タンパク質によっては、複数の変形状態のデータが登録されており、このようなタンパク質については、データの比較に基づいた解析により内部運動特性を知ることができる。しかし、比較による解析が可能なタンパク質は一部であり、特定の3次元構造データから、直接的に内部運動特性を予測することは興味深い課題である。

ところで、図1に示すように、タンパク質の主たる状態は主鎖上に並ぶ2面角 ( $\phi$ ,  $\psi$ ) により決まるが、これを回転関節によるものと見なすとタンパク質を一種のロボット機構と捉えることができる。このことから、ロボット機構の運動学解析に関する知見を活用してタンパク質の3次元構造データを解析すれば、その内部運動特性の概略を、比較的少ない計算コストで予測できるのではないかと考えた。

## 2. 研究の目的

「タンパク質の運動学的構造」と「ロボット機構の運動学的構造」の間にあるアナロジーを利用し、ロボット機構の運動学の視点に基づき、タンパク質の3次元構造データからその内部運動特性の概略を予測するための数値計算方法を明らかにすることを目的とする。

具体的には、ロボット機構の運動学解析の手法を応用し、タンパク質のモデル化の手法と、その内部運動を解析するためのアルゴリズムを示す。さらに、考案した解析アルゴリズムを、実際のタンパク質の3次元構造データに適用して、その内部運動特性の解析を行う。そして、解析結果と計測により明らかにされている内部運動特性を比較し、考案した

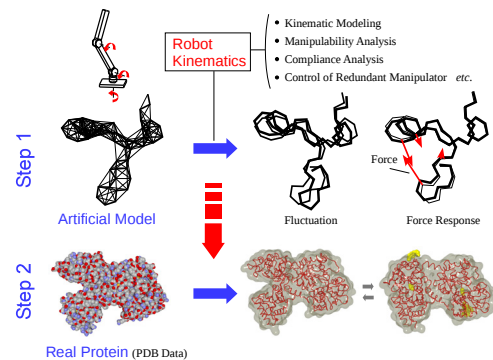


図2 研究方法の概略

解析アルゴリズムの有効性を検証する。

## 3. 研究の方法

### (1) 基本方針

本研究は、大きく分けて、「タンパク質の内部運動特性解析アルゴリズムの検討」、および、「計算機プログラムによる解析アルゴリズムの実装と有効性の検証」から構成される。しかし、実際のタンパク質は、複雑な3次元構造体である上、少なくとも数百自由度を持つため、プログラム実装のための時間、解析にかかる計算時間等を考慮すると、初段階から実際のタンパク質の解析を行っては効率的に研究を進めることは難しい。そこで、図2に示すように、研究を2つの段階に分けて実施することにした。第1段階では、計算機内で人工的に生成した簡易的なタンパク質モデルを用いて基本解析アルゴリズムの検討を行う。その後、第2段階に進み、実際のタンパク質の3次元構造データ (PDB データ) を対象として解析を行い、考案した解析アルゴリズムの有効性の検証を行う。

### (2) 2次元主鎖モデルによる基本解析アルゴリズムの検討

第1段階においては、まず、実タンパク質の特徴を最小限に保存した簡易的な人工タンパク質モデル (2次元主鎖モデル) の生成法について検討した。そして、可操作性解析、冗長マニピュレータの制御、コンプライアンス解析等、ロボット機構の運動学解析手法を応用し、構造ゆらぎ、外力による変形、指定部位の硬さ等を解析するための基本解析アルゴリズムの検討を行った (計算機プログラムによる実装を含む)。

### (3) 実タンパク質の解析

第2段階においては、まず、前記(2)で検討した基本解析アルゴリズムを、実際のタンパク質の3次元構造にも対応できるように拡張したものを計算機プログラムとして実装した。また、PDB データから本解析アルゴリ

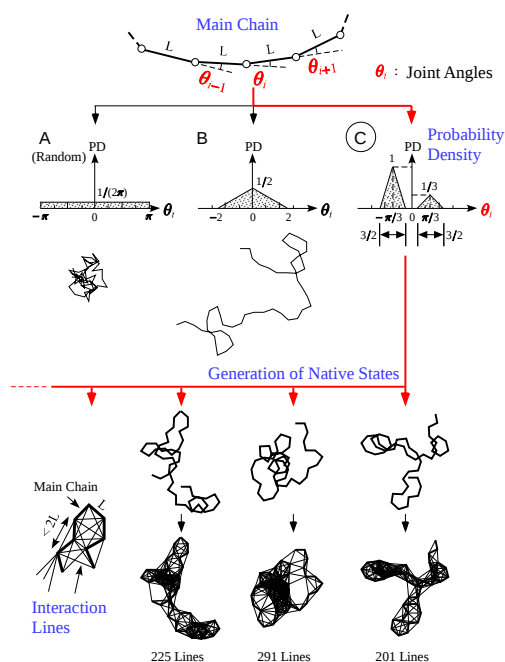


図3 2次元主鎖モデルの生成

ズムに適合する解析モデルを自動的に生成するためのプログラム、解析結果をグラフィック表示するために必要な各種フィルタプログラム群の開発も併せて行った。そして、開発したこれらの計算機プログラムを用い、鉄輸送タンパク質「ラクトフェリン」の内部運動特性の解析を行い、その解析結果を文献に報告されている内部運動特性と比較検討することを行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) 2次元主鎖モデル

図3は、第1段階で用いる簡易人工タンパク質モデル（2次元主鎖モデル）の生成方法を表す。このモデルは、タンパク質の主鎖構造を模した50自由度の平面シリアルリンク機構を骨格構造として持つ。また、各リンク間の相対角度を確率的に設定した状態を天然状態と見なす。その際、設定する確率密度関数によっては塊状（図3A）あるいは繊維状（図3B）の状態が生成されるが、このような状態を避けるため、図3Cのような非対称の確率密度関数を用いることにした。

さらに、タンパク質内部の原子間相互作用を模擬するため、天然状態における関節間距離に注目した。これが閾値以下ならば、その距離を変化させるためにエネルギーを要すると考える。また、このような関節どうしを結ぶ線分のことを「相互作用線」と呼ぶことにする。図3には、リンク長 $L$ に対して関節間距離閾値 $L_{th}$ を $2L$ とした場合の相互作用線を示している。

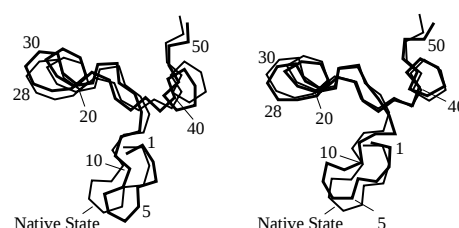


図4 構造ゆらぎ

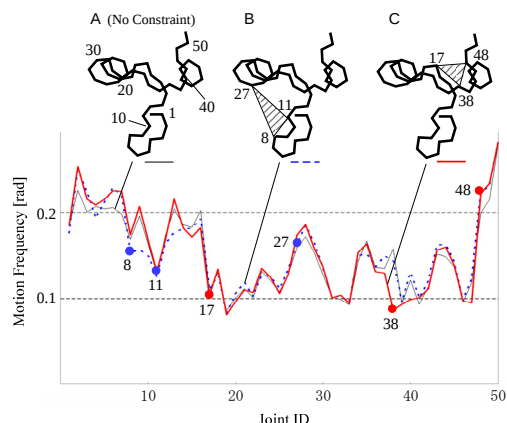


図5 拘束による構造ゆらぎの変化

##### (2) 構造ゆらぎの解析

構造ゆらぎ特性の解析アルゴリズムについて検討した。実際のタンパク質においては、原子のパッキング状態が大きく変化するような変形は起こりにくい。そこで、各相互作用線の歪を並べた歪ベクトルに着目し、この歪ベクトルの大きさ（ユークリッドノルム）が大きくなるような変形は起こりにくいと考えた。そして、歪ベクトルの大きさが指定した小さな値となる状態を列挙したものが、構造ゆらぎの過程で生じる状態に相当すると考えた。ロボットマニピュレータの手先速度特性を評価するための指標として、ヤコビ行列の特異値分解に基づく「可操作性」と呼ぶ指標が広く用いられている。これは、ロボットマニピュレータの関節速度ベクトルの大きさが与えられたときに実現される手先速度ベクトルの集合を求める問題に相当するが、相互作用線の歪ベクトルを手先速度ベクトルに対応させると、先の相互作用線の歪ベクトル一定の状態を列挙するという問題は、ロボットマニピュレータの可操作性解析と同種の問題となる。図4に示した2次元主鎖モデルの2つの状態は、可操作性解析の手法を応用し、相互作用線の歪ベクトルの大きさが等しくなるように計算したものである（Kabsch法により天然状態に重ねて表示している）。

さらに、タンパク質にリガンドが結合した状態を想定し、2次元主鎖モデルの一部が拘

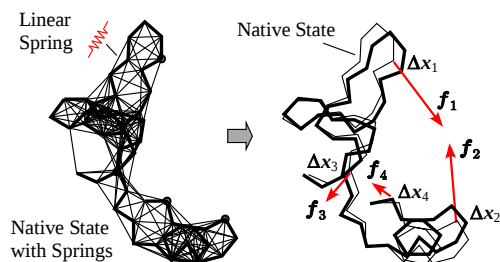


図6 外力応答

束された際のゆらぎの変化についても検討した。この問題に対しては、冗長マニピュレータの制御手法を応用することができる。冗長マニピュレータは、手先の状態を固定してもなお自由度が残り、その自由度を使って障害物回避等の他のタスクを行うことができるが、その制御においては、ヤコビ行列の核空間（手先速度を零とする関節速度の集合）を求めることが基本となる。2次元主鎖モデルに対する拘束を、指定した関節間距離が不変という条件によって与えたとする。この条件を維持したまま関節を動かすという問題は、指定した関節間距離を手先状態と考えれば、冗長マニピュレータの制御問題と本質的に等価である。

図5に解析結果の一例を示す。拘束がない状態、拘束がある状態（2通り）それぞれについて、相互作用線の歪ベクトルの大きさが同じ状態を確率的に各500通り生成した上で、各関節の動きの頻度を評価した（各角度変化の大きさの平均値を、相互作用線の歪ベクトルの大きさに正規化したもの）。例えば、図5Cのような拘束を行った場合、拘束がない場合（図5A）に比べ、関節38付近の関節の動きは弱まるが、関節2から7の動きは逆に活発化している様子が確認できる。

### (3) 外力応答の解析

タンパク質はリガンドと結合する際、あたかもリガンドの形状に馴染むかのように変形する（誘導結合）。また、リガンドが結合する部位は柔軟性が高いことが知られている。これらの特性を解析することを念頭に、外力が作用した際の変形（外力応答）を解析する手法について検討した。その際、相互作用線に沿って線形ばねを設定した図6のようなモデルを考えた。ここで、互いに離れているほど相互作用の影響は小さいと考え、各ばねのばね定数は、天然状態における相互作用線の長さに反比例するように設定した。外力がする仕事と、ばねに蓄えられたポテンシャルエネルギーが等しいという条件により関節変位を求めることができるが、その際、2次元主鎖モデルを、「関節角度によって全作用点の座標を同時に制御するマニピュレータ」と見なす視点、および、「関節角度によってばねの長さを制御するマニピュレータ」と見

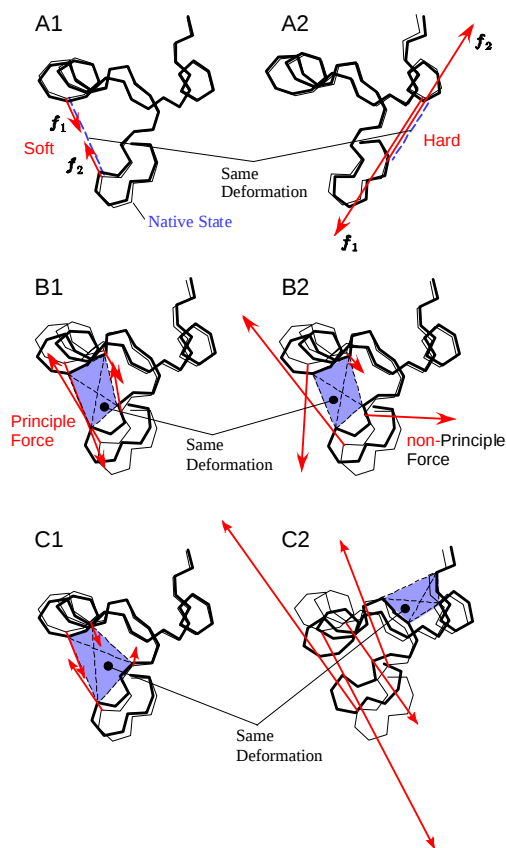


図7 外力応答解析の応用

なす視点を導入することで、ロボット機構の静力学解析問題として扱うことが可能となる。図6は、そのようにして計算した変形状態を表している。

さらに、図7に示すように、この外力応答解析は、指定部位の硬さ評価（図7A）、指定部位の変形に主要な影響を与える力（Principle Force）の計算（図7B）、ある部位に作用した力が他の部位の変形に与える影響の評価（図7C）等、様々な解析に応用することができる。

### (4) 実タンパク質の解析方法

2次元主鎖モデルの解析を通して考案した基本解析アルゴリズムを用いて、実際のタンパク質の内部運動特性の解析を行った。本解析アルゴリズムは、相互作用線の長さをはじめとする各種距離と関節角度の関係を表すヤコビ行列の計算が基本となっている。実際のタンパク質は3次元構造体であるが、2次元問題から3次元問題となっても、距離計算は同様に行うことができるため、解析アルゴリズム自体に大きな変更は必要ない。解析にはPDBデータを用い、2次元主鎖モデルにおける関節角度を、タンパク質の主鎖の2面角（ $\phi$ ,  $\psi$ ）に、相互作用線を、 $\alpha$ 炭素間を結ぶ線分のうち長さが閾値  $L_{th}$  以下のものに対応させた。計算の過程で2面角を回転させる

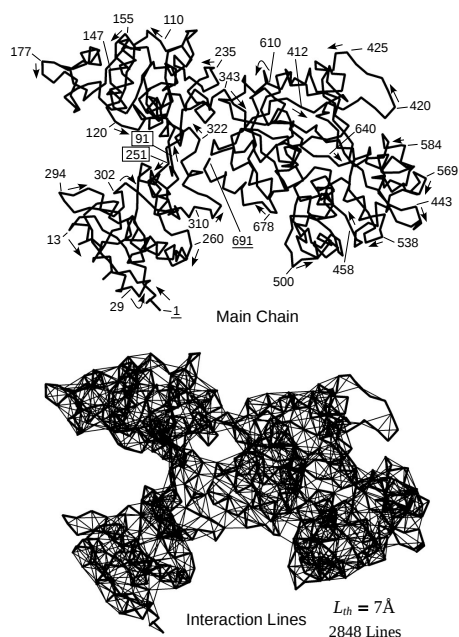


図 8 主鎖と相互作用線 (PDB-ID: 1LFH)

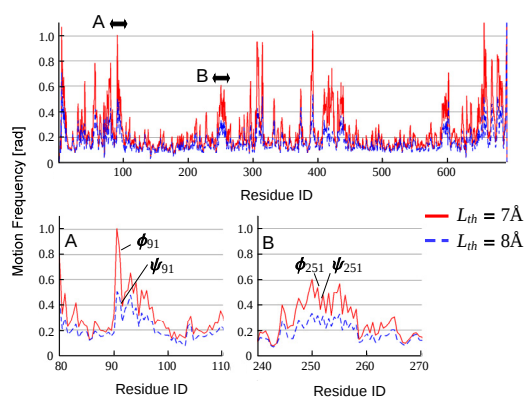


図 9 構造ゆらぎ解析結果

操作が頻繁に必要なが、これは、ロボット機構の運動学計算において一般的に行われる任意軸まわりの回転操作そのものである。

#### (5) ラクトフェリンの内部運動特性の解析

解析対象として、計測により内部運動特性がよく知られているタンパク質「ラクトフェリン」(PDB-ID: 1LFH, 残基数 691) の PDB データを用いた。図 8 はその PDB データから抽出した主鎖構造、および計算により求めた相互作用線 ( $L_{th}=7\text{Å}$ ) を表している。

まず、上記(2)で述べた方法により、構造ゆらぎ特性の解析を行った (500 通りの状態を確率的に生成)。この解析により求めた各 2 面角の動きの頻度を図 9 に示す。ラクトフェリンは、図 8 において左側に位置する溝の中にヘム鉄を結合するが、その際、この溝を

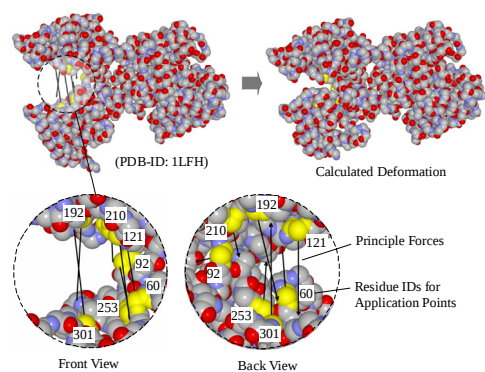


図 10 外力応答解析結果

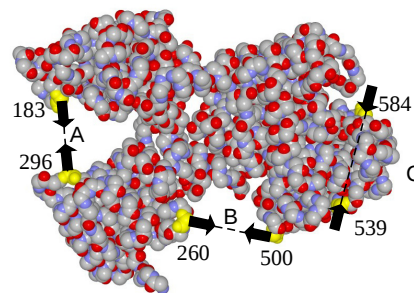
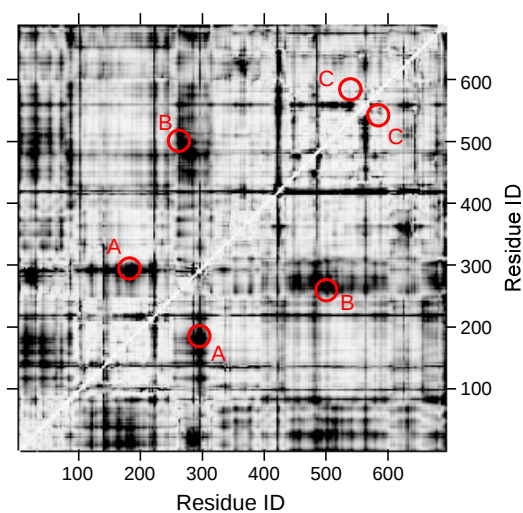


図 11 残基間コンプライアンス解析結果

閉じるように構造が変化することが知られている。また、この構造変化に主要な役割をする残基が、残基 91 と 251 であることも特定されている (これらの残基を通過する軸が回転軸を構成する)。図 9 を見ると、これらの残基上の 2 面角近傍にピークが存在することが確認できる (これらの 2 面角が動き易いことを示している)。

次に、上記(3)に述べた方法により、外力応答の解析を行った。ラクトフェリンのヘム鉄結合に関わる残基 (60, 92, 121, 192, 210, 253, 301) の  $\alpha$  炭素の位置を作用点とし、これらに囲まれる領域の変形に主要な効果を及ぼす力ベクトルを計算した (図 7B 参照)。図 10 は、その力ベクトルと変形の様子 (主

鎖上の原子によるスペースフィリングモデル)を表しているが、溝を閉じるような変形が生じていることが確認できる。さらに、任意の2残基の $\alpha$ 炭素を作用点、それらを結ぶ線を作用線とする互いに逆向きの力を図 7A に示した要領で作用させ、そのときに生じる変形により残基間コンプライアンスを解析した。解析結果を図 11 に示す。図 11 の濃淡グラフは、横軸、縦軸とも残基番号を表しており、それにより表される座標点の色が濃いほど、対応する残基間コンプライアンスが高い(柔らかい)ことを示している。例えば、図 11A(残基 183 と 296)やB(残基 260 と 500)のように溝を跨ぐ残基間コンプライアンスは高く(柔らかく)、C(残基 539 と 584)のように原子が密集する部位を挟む残基間コンプライアンスは低い(硬い)ことが確認できる。

#### (6) まとめ

本研究では、ロボット機構の運動学の視点に基づき、タンパク質の3次元構造データから、その内部運動特性の概略を予測するための解析方法を示した。本手法で用いるモデルは、主鎖構造と $\alpha$ 炭素間を結ぶ相互作用線による比較的シンプルなものであるが、前記(5)に示したように、ラクトフェリンの内部運動特性の解析結果は、計測により明らかにされている特性に適合するものであった。今後、複数のサブユニットから構成されたタンパク質を含め、多様なタンパク質について解析を行い、同様の比較検討を積み重ねる必要があるが、本手法はタンパク質の内部運動特性の概略を予測するための新たな手法の一つになり得ると考える。

従来から、タンパク質の構造とロボット機構の構造の類似性については指摘されており、タンパク質のフォールディングシミュレーションにロボットマニピュレータの逆運動学計算が応用された例もある。しかし、従来の研究においては、例えば、タンパク質のある残基をマニピュレータのベースリンクに、別の残基をハンドリンクに対応させるといように、両者の間のアナロジーを見出す範囲が表面的なものであった。これに対して、本手法では、「相互作用線の歪を制御するマニピュレータ」、「外力の作用点位置を同時に制御するマニピュレータ」、「拘束条件を表現するパラメータを制御するマニピュレータ」というように、より広い観点からアナロジーを見出し、これらを適切に切り替えている。そして、「可操作性解析」、「冗長マニピュレータ制御」、「コンプライアンス解析」等のロボット工学的手法を組み合わせることで、タンパク質の内部運動特性の解析を可能としている。この点が、本手手法の最も大きな特徴である。

タンパク質が機能を発現する過程を理解するには、複数の分子の相互作用によって構成されるシステムを理解することが必要である。本研究で見出したタンパク質とロボット機構のアナロジーの本質は「拘束を含む多自由度システムの記述」にあるが、これは、複数の分子間の相互作用を含むシステムを扱う場合においても重要な要素であろう。今後、本研究で示した解析アルゴリズムを、このようなシステムの解析に応用することは非常に興味深い課題である。

#### 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2件)

①Keisuke Arikawa, Investigation of Algorithms for Analyzing Protein Internal Motion from Viewpoint of Robot Kinematics, 2010 ASME IDETC 34th Annual Mechanisms and Robotics Conference, Canada, 査読有(2010.8 発表予定)

②有川敬輔, ロボット機構の運動学の視点に基づくタンパク質の内部運動特性解析法に関する研究(2次元主鎖モデルを用いた基本解析アルゴリズムの検討), 第30回 バイオメカニズム学術講演会, pp.123-126, 2009.11.14, 北海道大学

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

有川 敬輔 (ARIKAWA KEISUKE)  
神奈川工科大学・工学部・准教授  
研究者番号: 50350674

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

なし