

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月20日現在

機関番号：32714

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22760195

研究課題名（和文） タンパク質の機能発現を支える運動学構造のロボット機構学的視点による理解

研究課題名（英文） Understanding of Kinematic Structures of Proteins for Performing Functions from a View Point 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）：ロボット機構学の視点に基づき、タンパク質の構造をばねによって拘束されてシリアルマニピュレータの集合体としてモデル化する方法、および、その内部運動特性を解析する方法を示した。多様なタンパク質の PDB データに対して本手法を適用したところ、それぞれの機能発現に関わる実際の内部運動特性に適合する特性が得られた。そして、タンパク質の機能発現を支える運動学構造が、本モデルおよび解析手法により表現されることを示した。

研究成果の概要（英文）：From a perspective of robot kinematics, we proposed a protein model which comprises serial link manipulators constrained by springs, and a method for analyzing the characteristics of the internal motion. We applied this method to data from PDB of a variety of proteins. The results are almost consistent with the actual internal motions of them in performing functions. The kinematic structures of proteins for performing functions are represented in the model and the analysis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合 計
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総 計	1,000,000	300,000	1,300,000

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：ロボット機構、蛋白質、運動学

1. 研究開始当初の背景

タンパク質は、化学反応触媒、免疫、信号伝達、物質輸送をはじめとする生命現象の根幹機能を提供している。その構造は、20 種類のアミノ酸を数十から数千個、直鎖状に連結し、それを3次元的に複雑に折り畳んだもの

となっているが（図 1 上）、この3次元構造は柔軟性を有しており、生体内において常に内部運動（変形）しながら、他の分子と相互作用を繰り返している。タンパク質の上記機能の発現に関して、その構造の柔軟性に起因する内部運動が果たす役割は極めて大きい。そして、タンパク質の構造は、一見すると無

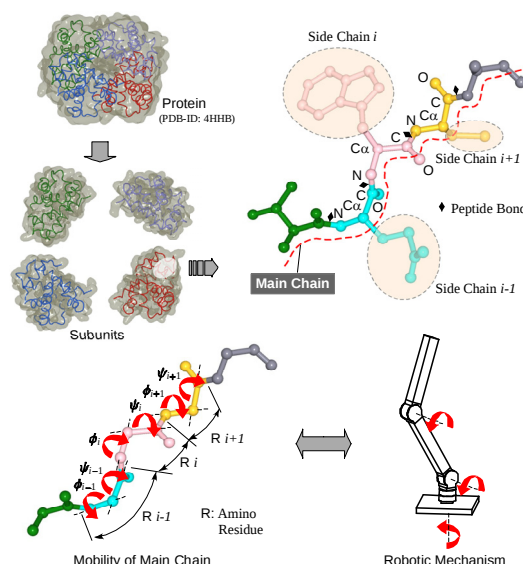


図1 タンパク質の基本構造とロボット機構

秩序に絡まった糸のようであるが、そこには、安定した内部運動を実現し、機能発現を支えるための運動学構造が存在すると考えられる。これを理解するには、計算機によるタンパク質の挙動解析が有効であると考えられる。

タンパク質の挙動解析の代表的な手段として分子動力学計算が挙げられる。しかし、機能発現につながるような内部運動を表現しうる時間スケールを扱うことは、計算規模の点から困難であるのが現状である。そこで、分子動力学計算で用いるモデルよりも粗い近似モデルの導入と、そのモデルに適した解析方法が必要となる。その際、図1下に示すように、タンパク質の構造を一種のロボット機構として捉え、ロボット機構の運動学の視点を導入することが有効ではないかと考えた。

2. 研究の目的

タンパク質の構造を一種のロボット機構としてモデル化する方法、および、同モデルを用いて機能発現に直接的に関わる内部運動特性を解析する方法を明らかにする。そして、この過程を通して、ロボット機構学的視点から、タンパク質の機能発現を支える運動学構造を理解することを目的とする。

3. 研究の方法

まず、タンパク質の構造をロボット機構としてモデル化する方法を検討する。その際、特定のタンパク質をモデル化するだけでは不十分であり、4次構造を有するタンパク質、

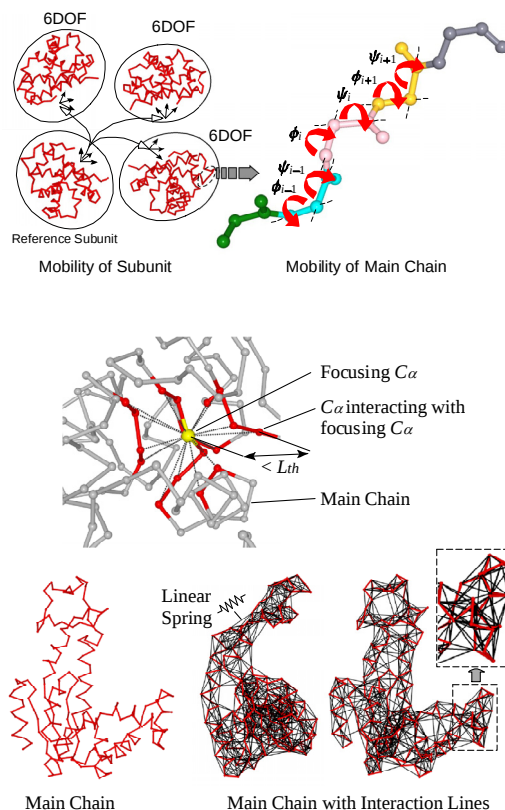


図2 タンパク質のモデル化

ジスルフィド結合のような強い結合を含むタンパク質、構造データに欠失を含むタンパク質をはじめ、多様なタンパク質に対応することを重視する必要がある。さらに、同モデルを用い、機能発現に直結する内部運動特性を解析するための基本解析手法、および、解析結果を評価するための方法を、ロボット機構の運動学解析手法をもとに検討し、これらを計算機プログラムとして実装する。そして、多様なタンパク質の3次元構造データ(PDBデータ)を用いて内部運動特性の解析を行い、その解析結果と、実際の機能発現につながる内部運動特性の比較検討を行う。

この一連の、タンパク質のモデル化、解析手法の検討、計算機プログラムとしての実装、解析結果と実際の特性との比較検討は、一方方向的に行うものではなく、結果をモデル、および、解析手法にフィードバックしながら繰り返し行うものである。この過程を経て、多様なタンパク質について、解析により得られた特性と実際の特性の間に、一定の適合性が見られるようになれば、これらのモデルと解析手法の中に機能発現を支える運動学構造が表現されていると解釈できる。そして、これらを通して、タンパク質の運動学構造に関する考察が可能となる。

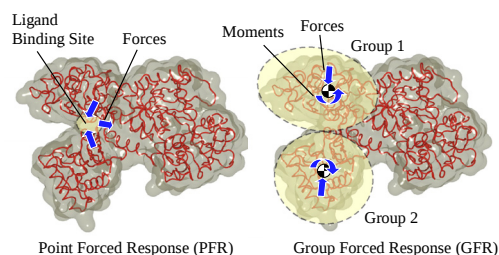


図3 基本解析方法

4. 研究成果

(1) タンパク質のモデル化

図2上は本モデルで用いるタンパク質の状態表現方法を表している。タンパク質の内部には多数の原子が密に充填されているが、個々の原子の運動を表現することはせず、主鎖構造にのみ着目し、これを2面角 ϕ 、 ψ を関節とするシリアルリンク機構と見なして状態を表現する(1残基あたり2自由度)。また、マルチサブユニットタンパク質については、各主鎖に相当するシリアルリンク機構全体が任意に設定された基準サブユニットに対して6自由度相対運動可能なように扱う。なお、タンパク質の状態を表現するのに用いる変数のことをコンフォーメーション変数と呼ぶことにする。

タンパク質内の原子は、互いに相互作用(水素結合、静電相互作用、疎水性相互作用など)を行い、これが複雑なエネルギー場を生成するが、タンパク質は天然状態にあるとき、最もエネルギーが低いと言われている。したがって、原子のパッキング状態が大きく変化し大きなエネルギー上昇を伴うような内部運動は起こりにくいと考えられる。この効果を表現するため本モデルにおいては α 炭素間の距離に応じた線形ばねを設定する。ここで、 α 炭素間の距離が閾値 L_{th} 以下の場合にばねを設定し、自然長を天然状態における α 炭素間距離に、ばね定数を自然長に反比例するように設定する。このように構築したモデルでは、天然状態がエネルギー最小の状態となり、また、より近接している α 炭素どうしの相対変位に対してより大きな復元力が作用することになる。

(2) 解析方法

本解析では、図2のモデルに対して釣合外力(静力学的に釣合った外力)を与えた際に生じる変形を評価することを基本とする。ここで、「ポイント外力応答」(PFR: Point Forced Response)、および、「グループ外力応答」(GFR: Group Forced Response)と呼ぶ2通りの方法を考えた(図3)。

ポイント外力応答では、複数の点に力を作

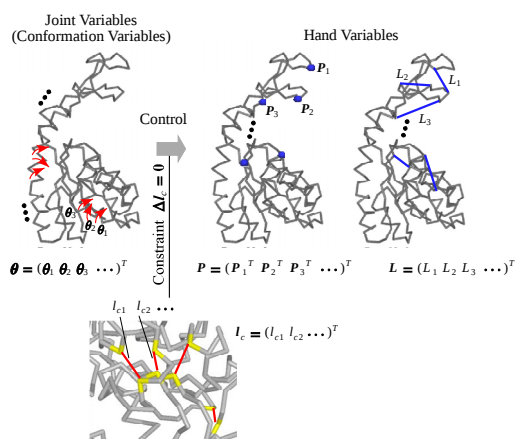


図4 基本運動学表現

用させ、その際に生じる変形を評価する。力の作用点として、他の分子と相互作用する部位の α 炭素位置を採用すれば、他の分子との相互作用が変形を誘発するものとするInduced-fitモデルに対応するものと解釈できる。一方、グループ外力応答では、特定の部位を表す点に対してではなく、指定した残基グループ(2次構造、ドメイン、サブユニット等)の重心に対して外力(モーメントを含む)を作用させ、グループをあらゆる方向に揺らした時のコンプライアンス特性から、構造自体の持つ固有の変形特性を抽出しようとするものである。これは、構造変化状態は、自身の揺らぎの中に既に存在しているとするPreexistingモデルに対応すると解釈できる(過剰な拘束を避けるため、指定した残基グループ自体も、図2のモデルに基づいた柔軟体としとして扱う)。

ポイント外力応答およびグループ外力応答の基礎式の導出にあたり、タンパク質モデルを一種のロボットマニピュレータと見なすことで、ロボット機構の運動学解析手法を応用することができる。一般にマニピュレータの制御においては、関節によって手先の状態を制御することが第一目的となるが、本モデルにおける関節(関節変数)はコンフォーメーション変数と考えるのが自然である。一方、手先(手先変数)に相当するものは自明ではないが、解析を考えたとき、指定した複数の点の位置、あるいは、指定した複数の点の間の距離が対応することになる(図4上)。特に、関節変数と手先変数の関係を表すヤコビ行列の計算が解析の中で重要な位置を占めるが、その計算はロボットマニピュレータのヤコビ行列の計算と同様である。

さらに、ジスルフィド結合のような強い結合を表現するために、指定した α 炭素間距離の拘束を導入した(図4下)。この拘束を維持したままコンフォーメーション変数を変動させる必要があるが、これは、冗長マニピ

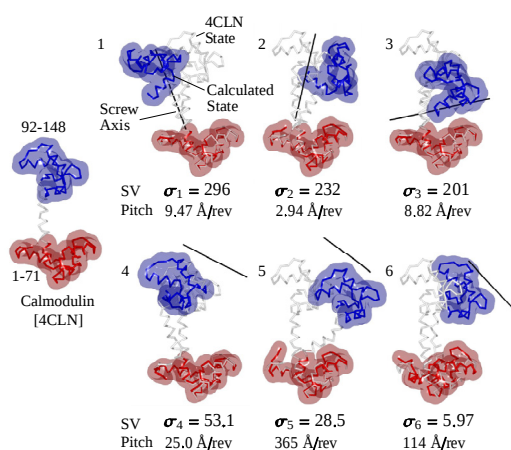


図5 解析結果 (カルモジュリン)

ュレータの制御の基本問題 (手先状態を維持したまま関節を動かす) と同種の問題である。

なお、数千残基を含むタンパク質にも対応できるようにするために、プログラム実装上の課題として、数値安定性の向上やメモリ使用効率の向上に関する検討も行った。

(3) 解析結果

様々なタンパク質のPDBデータに対して本手法を適用して解析を行った。解析例のいくつかを示す。

図5は、カルモジュリン (サブユニット数1, 残基数148, PDB-ID: 4CLN) を用いた計算例である。中央の α -ヘリックス両端のドメインをグループ指定し、グループ外力応答を計算した。計算された6種類全ての運動モードと、その際のグループ間相対運動を表す瞬間スクリュー軸を示している。図中に示した σ の値は運動の柔らかさの指標 (グループ間のコンプライアンス行列の特異値) を表しており、値が大きいほどその運動が起こりやすいと考えられる。図5の結果から、運動モード1~3は相対的に σ の値が大きく、運動モード4~6に比して起こりやすいと考えられる。スクリュー軸に付随するピッチの値を見ると、モード1~3は回転運動に近い運動 (ピッチ小)、モード3~6は並進運動に近い運動 (ピッチ大) となっているが、これは、中央の α -ヘリックス自体が折れ曲がるような運動を生じやすいことを示しており、実際の特性に適合する。

図6は、アスパラギン酸トランスカルバモイラーゼ (サブユニット数12, 残基数2,778) の構造と構造変化の様子を示している。R状態におけるPDBデータ (PDB-ID: 1D09) から構築した運動学モデル (図7, $L_{th}=8\text{\AA}$, 相互作用線数14175, 拘束線数36) に対して、サブユニットC1, 2, 3, およびC4, 5, 6をグループとするグループ外力応答を計算した。図

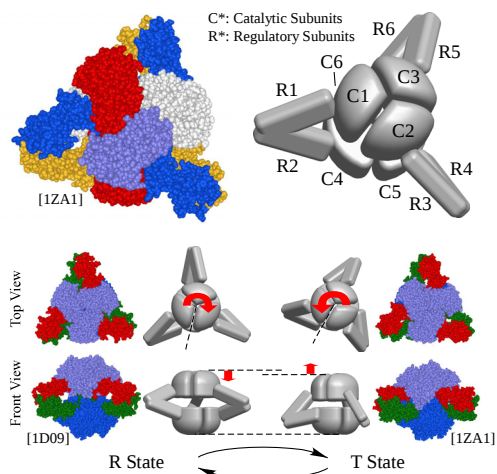


図6 アスパラギン酸トランスカルバモイラーゼの構造変化

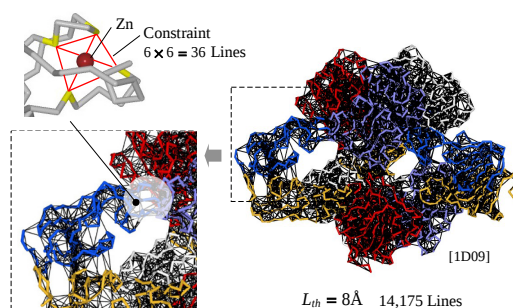


図7 アスパラギン酸トランスカルバモイラーゼの運動学モデル

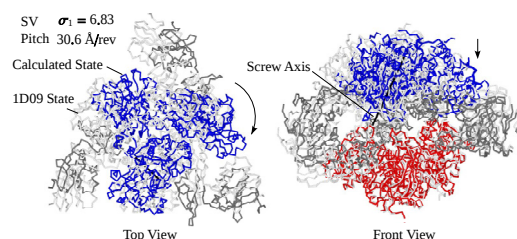


図8 解析結果 (アスパラギン酸トランスカルバモイラーゼ)

8は、6種類の運動モードのうち構造的に最も起こりやすいと考えられる運動モード (σ が最大となる運動モード) を表している。図6と比較すると、実際に生じる構造変化と同様の螺旋状の運動が生成されていることを確認できる。

図9は、ヘモグロビン (サブユニット数4, 残基数574, PDB-ID: 4HHB) を用いた解析結果を示している。サブユニット1に存在するヘムポケットを閉じるように力を作用させた場合の、ポイント外力応答を計算した。図中に示したサブユニット間相対運動を表すス

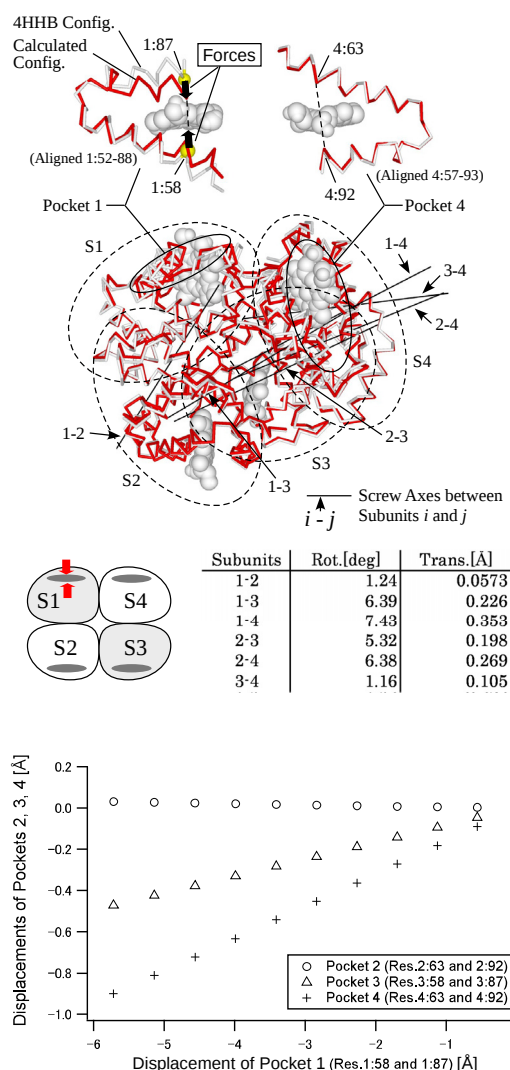


図9 解析結果 (ヘモグロビン)

クリュー軸まわりの回転量, および, 同方向への並進量を見ると, サブユニット1と2の間, および3と4の間の相対運動が, その他のサブユニット間相対運動に比べてかなり小さいことがわかる. このことは, サブユニット1と2, および, 3と4が一体に近い形で動いていることを示している. また, 図9下のグラフは, この時の, ヘムポケット1 (サブユニット1内のヘムポケット) の開口変位と, 他のヘムポケットの開口変位の関係を表しているが, ヘムポケット4が, ヘムポケット1と最も協調的に開閉している様子が分かる. これらは, 実際のヘモグロビンが示すアロステリック特性に適合するものである.

図10は, ラクトフェリン (サブユニット数1, 残基数691, PDB-ID:1LFH) を用いた解析結果を示している. 鉄結合に関わる残基の α 炭素に力を作用させた際のポイント外力応答 (図10には最も変形し易い方向に外力

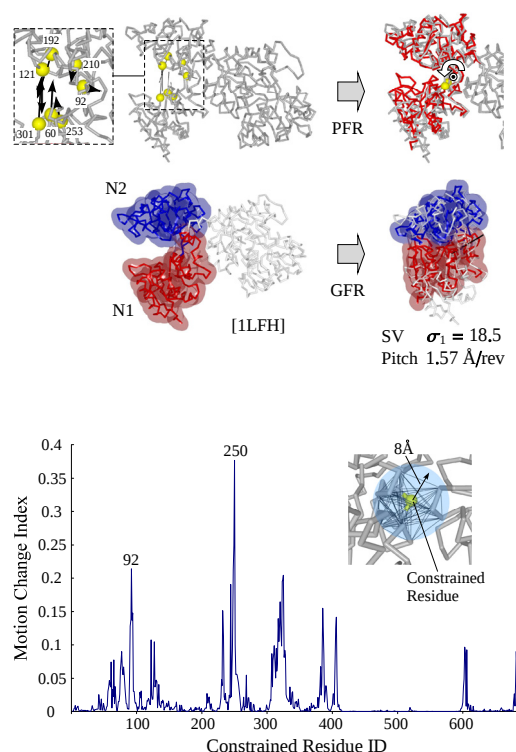


図10 解析結果 (ラクトフェリン)

を作用させたときの結果を示している), および, N1, N2ドメインをグループ指定した際のグループ外力応答 (図10には構造的に最も起こりやすいと考えられる運動モードを示している) を計算した. ラクトフェリンは鉄を結合する際, N1ドメインとN2ドメインの間の溝を閉じるように構造を変化させるが, 図10に示したいずれの外力応答によっても同様の運動が確認できる. 図10下のグラフは, グループ外力応答 (N1, N2ドメインをグループ指定) において, 一つの残基周囲を拘束した場合に生じる, 運動変化の度合いを表している (一つの残基の周囲8Å以内にある α 炭素について互いの距離を拘束している). 残基92および250の周囲を拘束したときに大きな運動変化が生じていることを確認できる. これらの近傍の残基91と251は, ラクトフェリンの構造変化において重要な役割をする残基 (ヒンジ軸がこれらの残基を通過する) であることが知られている.

本研究で導入したタンパク質のロボット化モデルは, 主鎖構造と α 炭素間距離に着目した簡易的なモデルである. それにも関わらず, このモデルをロボット機構の運動学解析手法により解析することで得られた, さまざまなタンパク質の内部運動特性は, 実際の機能発現に関わる特性に概ね適合するものであった. このことから, 本モデルおよび解析手法が, タンパク質の機能発現を支える運動学構造の本質を捉えていると解釈できる.

(4)運動学構造

本タンパク質モデルでは、主鎖構造による強い拘束がシリアルリンク構造として表現され、空間的に近接する残基間の拘束がばねによって表現されている（ジスルフィド結合のような強い拘束は解析において制御的に表現されている）。このばねの特性は、実際の原子間相互作用を表す力場に基づくものではなく、より近接している α 炭素どうしの相対変位に対してより大きな復元力が作用するように決めた簡易的なものである。つまり、本モデルにおけるエネルギーを小さくするためには、近接する α 炭素どうしをなるべく相対的に変位させないことが有利である。

そして、このモデルをロボット機構として解析する際に基本としたのが、釣合外力によって生じる変形の評価である（ポイント外力応答とグループ外力応答）。この外力による変形の意味は次のように解釈できる。例えば、直列につないだ2本のばね（ばね定数は同じとする）の両端を引っ張ると、両方のばねは同じだけ伸び、伸びに偏りは生じない。これは、静的釣合条件の帰結であると同時に、エネルギー最小化の帰結でもある（作用点変位を等しくする様々な状態が考えられるが、その中でエネルギー最小の状態が選ばれる）。これと同様、外力によって生じる本モデルの状態は、コンフォーメーション変数が取りうる全状態のごく一部であり、その状態は、同じ作用点変位を実現する状態の中で、本モデルの意味でのエネルギーを最小にするものである。また、ポイント外力応答においても、グループ外力応答においても、外力を作用させる際、作用点のみを指定し、それらの方向は指定しない。外力の方向によって硬さが異なるが、構造的観点から考えて、柔らかい方向に力を作用させたときに生じる変形が起こりやすい変形であるとした。

これらは、本研究で導入したモデルおよび解析手法の特徴であると同時に、タンパク質の機能発現を支える運動学構造をロボット機構学の視点から粗視的に捉えた特徴でもある。

(5)まとめ

ロボット機構学の視点に基づき、タンパク質の構造をロボット機構としてモデル化する方法、および、その内部運動特性を解析する方法を示した。多様なタンパク質のPDBデータに対して本手法を適用したところ、それぞれの機能発現に関わる実際の内部運動特性に適合する特性が得られた。そして、タンパク質の機能発現を支える運動学構造が、本モデルおよび解析手法により表現されることを示した。

本研究結果は、運動学構造として捉えると、タンパク質の機能発現に関わる内部運動特

性は比較的シンプルな原理により決定されることを示している。この特性を活かして本手法を発展させれば、複数のタンパク質の相互作用に関わる系における機能発現メカニズムの本質を捉えることも可能であると考えられる。

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4件）

①Keisuke Arikawa, Analyzing Internal Motion of Proteins from Viewpoint of Robot Kinematics: Formulation of Group Forced Response Method, 2012 ASME IDETC 36th Annual Mechanisms and Robotics Conference, USA, 査読有（2012.8発表予定）

②有川敬輔, ロボット機構の運動学の視点によるタンパク質の内部運動特性の理解, 第29回 日本ロボット学会学術講演会, 1D1-7, 2011.9.7, 芝浦工業大学

③Keisuke Arikawa, Kinematic Modeling and Internal Motion Analysis of Proteins from a Robot Kinematics Viewpoint, 2011 ASME IDETC 35th Annual Mechanisms and Robotics Conference, DETC2011-47970, 2011.8.31, USA, 査読有

④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モデル化と内部運動特性解析, 第31回 バイオメカニズム学術講演会, pp. 97-100, 2010.11.7, 静岡大学

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