

平成 2 7 年 6 月 1 5 日現在

機関番号：3 2 7 1 4

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012 ~ 2014

課題番号：2 4 5 6 0 3 0 9

研究課題名 (和文) ロボットモデルによるタンパク質の機能発現過程の理解

研究課題名 (英文) Understanding the Functional Expression Sequences of Proteins with a Robot Model

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：5 0 3 5 0 6 7 4

交付決定額 (研究期間全体) : (直接経費) 2,700,000 円

研究成果の概要 (和文) : 主鎖構造と線形ばねで粗視化したタンパク質モデルをロボット機構と見なし、このモデルから機能発現過程の理解に有用な情報を引き出すための解析手法を考案した。これらは静的釣合状態にある外力に対する応答解析が基本となっているが、中でも、形状機構性解析と呼ぶ形状の持つ機構的性質を抽出するための解析が有効である。並列計算、再利用計算等の機能を備えた計算フレームワークを開発し、様々な系について解析を行った結果、形状機構性を含む広義のコンプライアンス特性、特に、相互作用によって生じる同特性の変動を通して機能発現過程の理解に有用な情報が得られることが分かった。

研究成果の概要 (英文) : In this study, approximate protein models comprising main chain structures and linear springs were considered as robotic mechanisms. Methods were developed to effectively extract information on the functional expression of proteins from the aforementioned models. These analyses are based on responses to forces in static equilibrium. In particular, the mechanism feature analysis, which identifies mechanism features present in the shapes of proteins, is considered to be effective. Moreover, a computational platform that is capable of parallel and incremental computations was developed. Through the analyses of various types of protein systems, the study confirmed the ability to obtain insight into the understanding functional expression sequences by investigating compliance properties such as mechanism feature, in particular, observing the changes of these properties before and after the interactions with other molecules.

研究分野：ロボット工学

キーワード：ロボット機構 蛋白質

1. 研究開始当初の背景

タンパク質は、化学反応触媒（酵素）、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、数十から数千個の 20 種類のアミノ酸を直鎖状に連結し、それを 3 次元的に複雑に折りたたんだものとなっており、Protein Data Bank (PDB) には、計測により求められ様々なタンパク質の 3 次元構造データが収録されている。タンパク質の 3 次元構造は剛直なものではなく柔軟性を有し、生体内において変形しながら、他の分子と相互作用を繰り返しており、その挙動の理解は生命現象の理解に直結する。一般に、タンパク質の挙動を解析する場合、タンパク質内部の個々の原子に関する運動方程式を連立させて、その時間発展を積分により計算する分子動力学計算が用いられることが多いが、その計算負荷は極めて大きい。

筆者は、これまでに、ロボット機構とタンパク質の構造の間にある運動学的アナロジーに注目し、タンパク質の内部運動特性の解析方法について研究を行ってきた。その中で、タンパク質の三次元構造をロボット機構としてモデル化する方法を示し、その内部運動特性をロボット工学的な知見を応用して解析する方法を明らかにしてきた。本モデルはタンパク質の主鎖構造と α 炭素間距離に着目したシンプルなものであるにも関わらず、そこから予測される内部運動特性は、計測により明らかにされている特性に適合しうるものであった。

開発した手法は、モデルがシンプルな上に積分計算を要しないため、分子動力学計算に比べて計算負荷が軽い。この利点を活かせば、本手法をさらに発展させることにより、タンパク質が機能を発現する過程について、ロボット工学に基づく新しい視点から理解できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

タンパク質の機能発現の過程を、ロボット工学の知見を活用した解析に基づく新しい視点から理解することを目的とする。より具体的には、A. 複数のタンパク質を含む系のモデル化手法を示すこと、B. 機能発現過程における系の挙動解析手法を考案すること、C. 考案した解析手法を計算機プログラムとして実装すること、D. 実際の様々な系について解析を行い提案手法の有効性を検証することを目指す。

3. 研究の方法

研究の目的に示した、項目 A~D それぞれに課される要件は次の通りである。A に関して、筆者のこれまでの研究で使用してきたモデルは基本的に単一のタンパク質を対象と

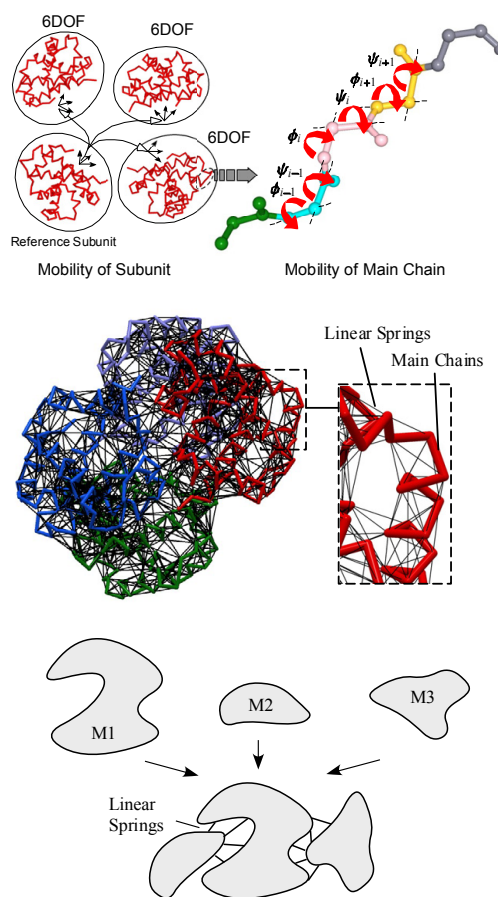


図1 タンパク質のモデル化

したものであったが、これを複数のタンパク質を含む系についても適用できるように拡張を行う必要がある。B においては、ロボット工学の知見を活用し、モデルから機能に関する情報を抽出しうる種々の解析アルゴリズムを考案するとともに、それらの定式化を行う必要がある。C においては、B で考案した解析アルゴリズムを計算機プログラムとして実装するが、規模の大きな系についても解析できるよう計算効率についても十分に考慮する必要がある。D においては、PDB データから構築した様々な系について解析を行い、その結果を実際の機能と比較していく必要がある。

これらの要件を考慮した上で各項目の課題に取り組んだが、逐次的に進めていくのではなく、ある項目の結果を他の項目にフィードバックしながら進めていくことを特に重視した。次章に記す内容は、このフィードバックを経た結果である。

4. 研究成果

(1) モデル化

図1に示すように、本研究で用いるタンパク質のモデルは、主鎖構造と線形ばねによって構成された粗視化モデルである。ここで、主鎖構造は1残基あたり2自由度（主鎖2面

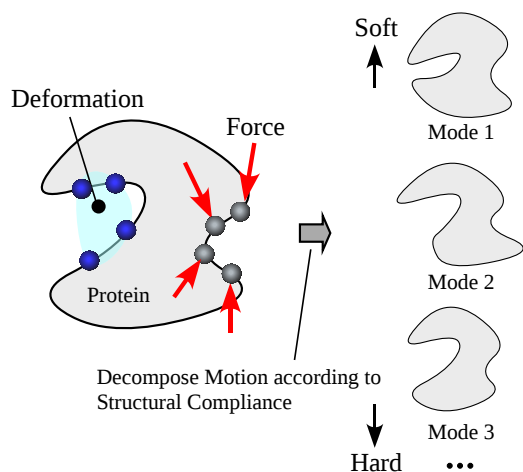


図2 分離コンプライアンス解析

角 ϕ と ψ) を持ち、サブユニット同士は相対的に6自由度を持つ。また、線形ばねは、互いの距離が閾値以下の α 炭素間に、ばね定数が距離に反比例するように設定している(本研究では閾値を8Åとした)。複数のタンパク質を含む系をモデル化するには、このタンパク質モデルを、3次元空間内に配置した後、異なるモデル間についても同様の規則によって線形ばねを設定する(図1下)。

主鎖構造をロボットアームと見なせば、本モデルをばねに拘束された複数のロボットアームの集合体と見なすことができるので、その解析にあたってはロボット工学の知見を直接的に活用することが可能である。本モデルは厳密化モデルではなく、粗視化モデルであるため、機能発現過程に関する詳細な情報を得ることは期待できない。しかし、同過程の本質理解につながる情報を少ない計算コストによって得られると期待できる。

(2) 解析方法

上述のモデルに対して静的釣合状態にある外力を作用させた際の応答を解析することが基本となるが、特に、本研究で開発した「分離コンプライアンス解析」、「変形指定解析」、「形状機構性解析」と呼ぶ解析が主要な役割を果たす。

分離コンプライアンス解析では、図2に示すように、力を作用させる部分と変形を評価する部分を分離した状態(同一の場合も含む)でコンプライアンスを定義し、コンプライアンスの大きさに応じて運動を分解するという操作を行う。このとき、よりコンプライアンスの大きな運動(より柔軟な運動)ほど発生しやすいと考えられる。なお、この解析は変形指定解析と形状機構性解析の基盤となっている。

変形指定解析では、図3に示すように、ある部位の変形方向を指定したとき、別の部位に作用する力のうち、指定した方向への変形を生じさせるのに最も効果的な力を求めるという逆問題の解析を行う。一般に、指定し

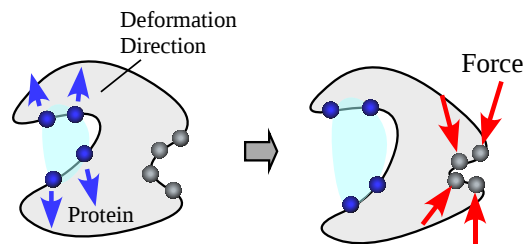


図3 変形指定解析

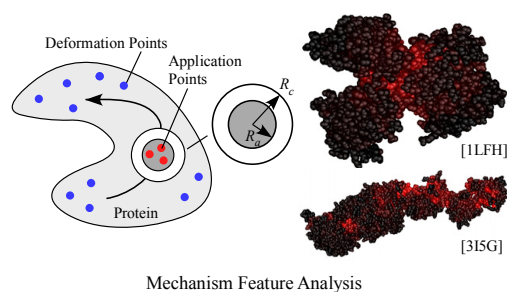
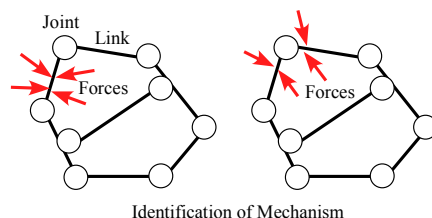


図4 形状機構性解析

た変形を厳密に実現する力は求まらないが、ここでは一種の最適化によってこの問題を処理する。この解析は、特に、力学的作用に反応するタンパク質の機能を理解する際に有効である。

形状機構性解析は、分離コンプライアンス解析を発展させたものであり、形状に内在する機構的な性質を抽出し評価することを目的とした解析である。あるリンク系が機構であるかを判定するにはクッツパッハの式に代表される自由度判定式を適用するのが一般的であるが、図4上に示すように、局所的に力を加えていったときに生じるリンク系全体の動きを評価することによっても判定可能である。後者の方法を応用し、図4左下に示すように、タンパク質モデル内の局所部位に静的釣合力を次々に作用させていき、その都度、全体の変形の大きさ評価していくことを行う。図4右下に2種類のタンパク質の形状機構性解析の例を示しているが、これは、コンプライアンス行列の特異値の上位3つを平均し、その値を色の明るさによって表わしたものである。明るい色の部位は、その部位の変形が全体の変形に大きな影響を及ぼすことを表しており、このような部位が機構の関節に相当する役割を果たすと解釈できる(次節に示す解析例でも同様の方法により形状機構性を可視化している)。さらに、他の分子との相互作用前後それぞれの状態に

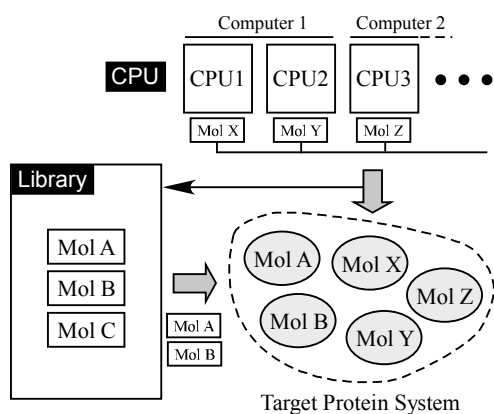


図 5 計算フレームワーク

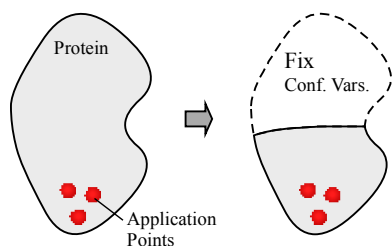


図 6 自由度圧縮

対して形状機構性解析を適用し、その結果を比較することにより、機能発現に直接的に関わる情報を抽出することが可能となる。

(3) 計算フレームワーク

開発した計算フレームワークの概略図を図 5 に示す。この計算フレームワークは、モデルごとのコンプライアンス計算を行う複数のプロセス、計算過程を再利用可能な形で保存するためのライブラリからなり、空間内に任意に配置した複数のモデル間の相互作用を含めた解析を、並列計算と再利用計算により効率的に行えるようになっている。例えば、図 5 において、5 つの分子 Mol A, B, X, Y, Z からなる系について解析する際、Mol A および B を含む系を過去に計算していたとする。このとき、Mol X, Y, Z については、複数の CPU で並列的にコンプライアンス計算を行い、Mol A, B についてはライブラリに保存されたコンプライアンスデータを読み出し、それらを融合することで計算を行う。さらに、今後の解析に備えて、新たに計算した Mol X, Y, Z のコンプライアンスデータをライブラリに保存する（次に Mol X, Y, Z を含む系を解析する際の CPU 資源を節約できる）。また、マルチサブユニットタンパク質の計算において、便宜的にサブユニットを一つのタンパク質と見なして本フレームワークで計算することにより同様の効果が得られる。この計算フレームワークによって、約 8000 残基を含む系について解析が行えることを確認した。

さらに、図 6 に示すように、解析基礎式の代数構造に関する考察をもとに、コンプライ

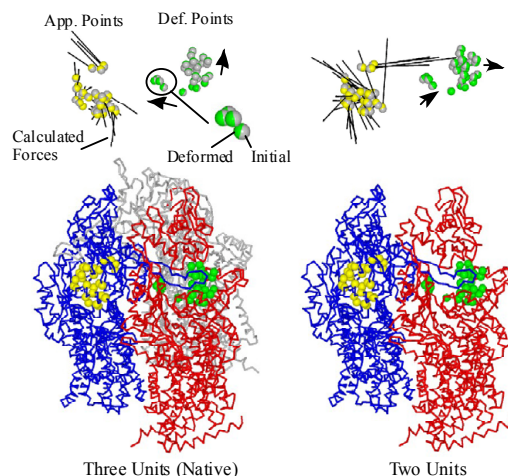


図 7 ドラッグポンプ

アンス特性をほぼ維持したままモデルの自由度（コンフォメーション変数の数）を低減させる自由度圧縮アルゴリズムの開発も行った。

(4) 解析例

図 7 にドラッグポンプ AcrB トランスポーター (PDB-ID:2DRD) の解析結果を示す。このタンパク質は 3 つのサブユニットから構成され、それぞれのユニットにドラッグを結合するための空洞が存在し（図 7 では結合部位を取り囲む α 炭素を球で示している）、これらのドラッグ結合部位を協調的に動作（アロステリック効果）させながらドラッグを細胞外に排出する。図 7 は、一つの結合部位を静的釣合力の作用点に、別の結合部位を変形評価点として、分離コンプライアンス解析（図 2）を適用した際の最も低い運動モード（最も柔軟で起こりやすい運動）を示している。左は 3 つサブユニットからなる本来の状態、右は人為的に 1 つのサブユニットを外した状態での解析結果であるが、左では変形評価点 (Def. Points) が相対的に運動し、これらの点に囲まれる領域が変形しているのに対して、右では変形評価点に囲まれる領域に変形がほとんど見られない。つまり、このタンパク質がサブユニットの配置の仕方によってアロステリック効果を実現していることを、構造コンプライアンスの観点から理解することが可能である。

図 8 にメカノセンシティブチャネル MscL (PDB-ID:2OAR) の解析結果を示す。このタンパク質は、細胞膜を貫通するように存在し、細胞の圧力弁としての機能を果たしている（細胞内の圧力が上昇すると中央部の孔を開くことで圧力を開放する）。このタンパク質について、中央部の孔を開くために最も有効な力を変形指定解析（図 3）によって解析した。図 8 からわかるように、計算により求めた力は膜貫通部分を放射状に引っ張る力であった。細胞は、一種の閉じたシェル状物体であり、内圧が上昇した際には膜に沿っ

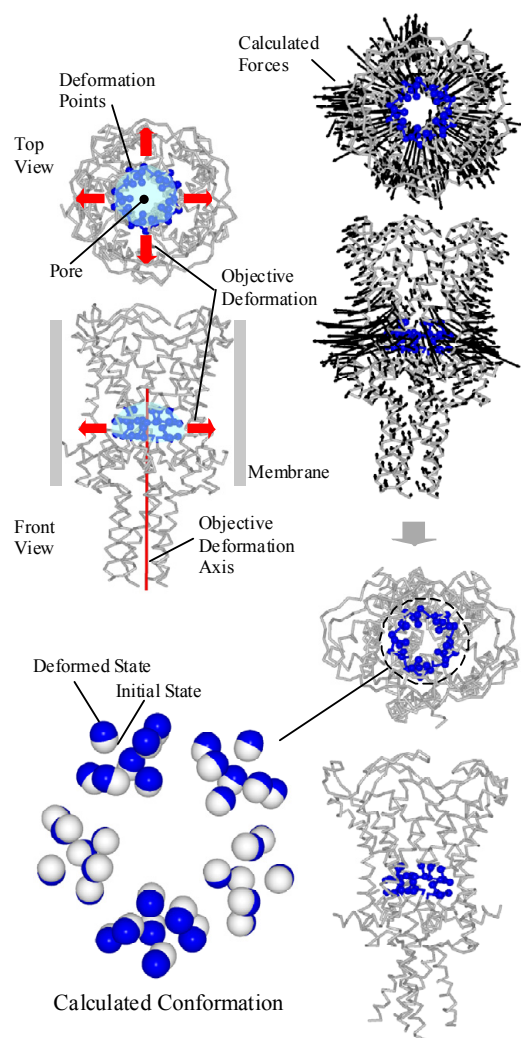


図8 メカノセンシティブチャネル

た方向への引張力がはたらく、つまり、膜上の点には放射状に引張り力がはたらくことになる。図8に示す結果は、このタンパク質の構造コンプライアンス特性が、圧力を開放するという機能に適合していることを示している。

インターフェロンを結合し、その活動を阻害するタンパク質 (PDB-ID:3BES) に、形状機構性解析 (図4, $R_a=R_c=8\text{\AA}$) を適用した結果を図9に示す。図9(a)に示すように、インターフェロンを結合する前は、中央の球状部分と左右の棒状部分の接合部位の変形が全体の変形に特に影響を与えやすいことが分かる。図9(b)のように、ここに2つのインターフェロンが結合すると、接合部を含め、全体の機構性が大きく低下している様子が確認できる。図9(c)は、(b)の結果を表示上の最大値を下げて表示したものであるが、(d)は上部に結合したインターフェロンを 30° 回転させたときの形状機構性解析の結果を (c) と同じ条件で表示したものである。(c) と (d) を比較すると、回転によって、上部のインターフェロンに近い部位の全体の運

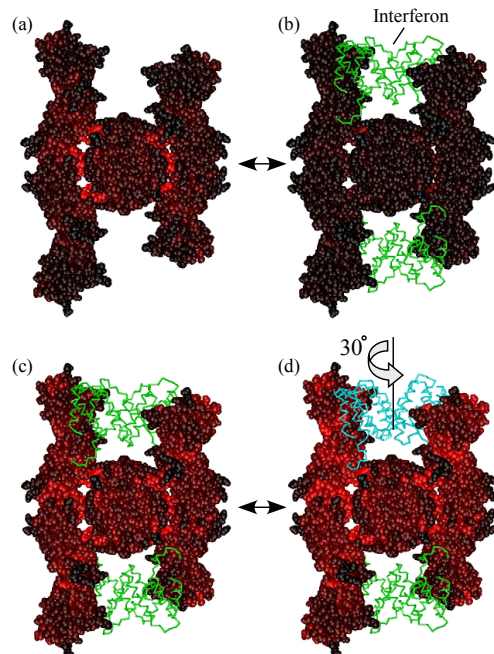


図9 インターフェロン結合タンパク質

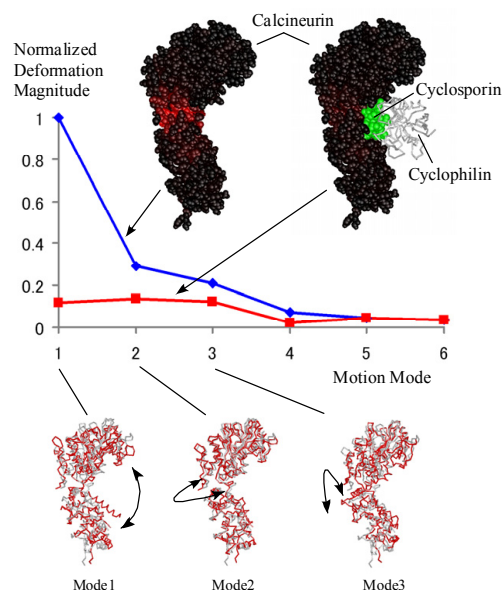


図10 カルシニューリン

動に及ぼす影響が大きくなっていることが確認できる (構造全体の平均で比較すると19%上昇している)。これらの結果は、誘導結合の過程を、形状機構性を通して解釈できることを示している。

図10に、免疫機能の発現に関わるタンパク質カルシニューリンの解析結果を示す (PDB-ID:1MF8)。免疫機能の発現において、カルシニューリンが活性化T細胞核因子に結合することが必要であるが、カルシニューリンに、シクロフィリンと免疫抑制剤シクロスポリンの複合体が結合することにより、この過程が阻害される。形状機構性解析 (図4, $R_a=R_c=8\text{\AA}$) の結果を見ると、カルシニューリンの屈曲部に局在していた関節領域が、複合体の結合により、ほぼ失われている様子が

分かる．図 10 に示したグラフは，カルシニューリンの全 α 炭素位置を作用点とした場合の運動モードと，各運動モードに付随する静的釣合外力に対する変形量を表している（複合体が結合していない状態での Model の変形量を 1 としている）．このグラフから，カルシニューリンの低次の運動モード（柔軟性が高く生じやすいと運動）が，複合体の結合により大幅に抑制されていることが分かる．例えば，Model の運動は中央に存在する大きな窪みを開閉する運動にあたるが，複合体の結合により 83%抑制されている．

(5) まとめ

本研究で用いたモデルは，粗視化した簡略化モデルであるにも関わらず，解析例に示したように，このモデルを分離コンプライアンス解析，変形指定解析，形状機構性解析を中心とするロボット工学の知見をもとに導出された手法を通して解析することにより，機能発現過程における現象をある程度解釈することが可能であることが分かった．本モデルにおいて保存されているのは，タンパク質の 3 次元形状と，形状に起因する構造コンプライアンス特性である．したがって，本研究で得られた結果は，タンパク質の固有の 3 次元形状自体に，機能発現に直結する情報が広義のコンプライアンス特性という形で埋め込まれていることの反映であると考えられる．

通常のコンプライアンス特性は，対象のある部分に作用させる力と，その部分に生じる変形とを関係づける量として定義されるが，この定義のコンプライアンス特性によって抽出できる情報は限定的である．本研究の特徴は，ロボット工学的視点に基づき，コンプライアンス特性の定義自体を拡張した上で，解析手法を厳密に定式化した点にある．これにより，タンパク質の機能発現過程を理解するのに有用なより多くの情報の抽出が可能となった．

本研究で開発した手法では，粗視化モデルを用いており，しかも，積分計算を必要としないため，分子動力学計算等に比較して計算負荷が小さい．この利点を活かせば，より複雑な多様な系についても適用できると考えられる．さらには，網羅的な解析，例えば，形状機構性解析を PDB データに網羅的に適用し，結果をデータベース化することなども可能であると考えられる．

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕（計 6 件）

- ① Keisuke Arikawa, Analyzing Motion Properties of Proteins Affected by Localized Structures from a Robot Kinematics Perspective, 2015 ASME IDETC 39th Annual Mechanisms and Robotics Conference, Boston (USA), 査読有（2015.8 発表予定）

- ② 有川 敬輔, タンパク質の構造コンプライアンス解析手法の改良, 第 52 回日本生物物理学会年会講演会, 2014. 9. 26, 札幌コンベンションセンター（北海道・札幌市）
- ③ Keisuke Arikawa, Extension of the Kinematics-based Method for Predicting the Motion of Proteins, 2014 ASME IDETC 38th Annual Mechanisms and Robotics Conference, 2014.8.19, Buffalo (USA), 査読有
- ④ 有川 敬輔, タンパク質の構造コンプライアンス特性の計算, 第 51 回日本生物物理学会年会講演会, 2013. 10. 28, 国立京都国際会館（京都府・京都市）
- ⑤ Keisuke Arikawa, A Computational Framework for Predicting the Motions of a Protein System from a Robot Kinematics Viewpoint, 2013 ASME IDETC 37th Annual Mechanisms and Robotics Conference, 2013.8.5, Portland (USA), 査読有
- ⑥ 有川 敬輔, ロボット機構の運動学に基づくタンパク質の内部運動解析, 第 50 回日本生物物理学会年会講演会, 2012. 9. 22, 名古屋大学（愛知県・名古屋市）

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：5 0 3 5 0 6 7 4