

平成22年5月20日現在

研究種目：特定領域研究
 研究期間：2005～2009
 課題番号：17081003
 研究課題名（和文）トランスポートソームを対象とした分子実態を伴った相互作用ネットワークの解析に関する研究
 研究課題名（英文）Construction and analyses of interaction network for transportsome using structural information
 研究代表者 木下 賢吾 (KINOSHITA KENGO)
 東北大学・大学院情報科学研究科・教授
 研究者番号：60332293

研究成果の概要（和文）：相互作用ネットワークの解析は、複雑な生命システムを理解する第一歩である。これまで相互作用ネットワークというと、要素としてのタンパク質を「点」、相互作用を「線」で著す抽象度の高いものであった。これに対して我々は、タンパク質の実体である立体構造を保持したままの状態での相互作用ネットワークの構築を行い分子レベルで生命を理解する基盤を構築するために、遺伝子共発現に基づいた相互作用ネットワークの推定法とタンパク質複合体構造の予測法の開発を行った。

研究成果の概要（英文）：Construction of interaction network of protein is a first step toward the understanding of complex biological systems. Usually, the network is made from nodes and edges representing proteins and interactions, respectively. However, the abstract representation prevents us from analyzing the biological systems in molecular levels. Therefore, in this project, we have developed a method to construct the interaction networks based on gene coexpression, and also develop a method to predict the protein complex structures.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	6,500,000	0	6,500,000
2006年度	12,600,000	0	12,600,000
2007年度	11,500,000	0	11,500,000
2008年度	11,500,000	0	11,500,000
2009年度	11,000,000	0	11,000,000
総計	53,100,000	0	53,100,000

研究分野：バイオインフォマティクス

科研費の分科・細目：情報学・生体生命情報学

キーワード：膜輸送複合体・トランスポートソーム・DNA マイクロアレイ・遺伝子共発現・タンパク質立体構造・タンパク質間相互作用

1. 研究開始当初の背景

個々の遺伝子の機能解析が進むに従って、一遺伝子一機能という考えでは理解できない現象が数多く報告されるようになってきた。それに伴い「システムバイオロジー」で代表されるような、

システムや遺伝子相互作用ネットワークとしての生物の理解が求められている。しかし、多くのシステムバイオロジー的アプローチでは、一気に全体を見ようとするあまり、個々の機能分子が高度に抽象化され、それらは情報としてしか扱

われない。その結果、従来の生物学的な知見との連携がうまくとれていないのが現状である。さらに、近年数多く明らかにされているタンパク質の立体構造情報が全く反映することができていない。

2. 研究の目的

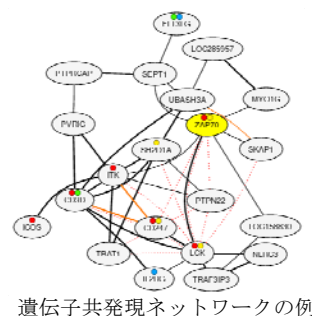
本研究では、医学・生物学的に非常に重要なトランスポートソームに特化することにより、膜輸送複合体を構成するたんぱく質間の相互作用ネットワークを構築し、分子実体(=タンパク質立体構造情報)を伴ったシステムとしてのトランスポートソームの実体解明を目指す。

3. 研究の方法

上記の目的のために、「なにが(どのタンパク質が)」「どのように」相互作用するのかを明らかにする事を目指して、以下の項目に関する研究を行う。(1)「何が相互作用するのか」現在 DNA マクロアレイのデータは数多く利用できるようになってきた。これら DNA マクロアレイのデータを多数利用する事で、様々な条件で発現量が同期して上下する遺伝子(=共発現遺伝子)群を同定することができる。共発現している遺伝子群は機能的な関連が強いことが多く、直接の相互作用が保証されるわけではないが、遺伝子共発現は相互作用する相手を探す強力な手段となる。このように有用な共発現であるが、1つのマイクロアレイ実験から得られるデータだけでも膨大であり、多数の実験を同時に利用して共発現を計算するのは実験研究者には容易な事ではなかった。また、従来使われていた共発現指標には様々な問題があった。そこで我々は、独自の共発現指標の開発を行い、その共発現指標を利用して、実験研究者にも利用しやすい遺伝子共発現データベースとして COXPRESdb を構築した。(2) どのように相互作用するのかに関しては、単体でのタンパク質立体構造数の増加を受け、複合体の構造予測法の開発を行った。複合体の予測のために、タンパク質の分子表面の構造に着目し、遺伝的アルゴリズムとモンテカルロ法を併せて、分子表面の凹凸が上手く合わさる配向を探す新規手法の開発を行った。また、形が上手く合う部分の物理的な特性(静電ポテンシャルと疎水性度)に着目し、予測複合体構造の尤もらしさを評価する関数の開発を合わせて行った。さらに、どのように相互作用するのかを原子レベルで明らかにするために、トランスポートソームで重要な役割を果たす膜のラフト構造を模した大きな膜にタンパク質を埋め込んだ大きな系のシミュレーションを行い、タンパク質が膜環境に及ぼす影響を明らかにし、トランスポートソームの構築原理の検討を行った。

4. 研究成果

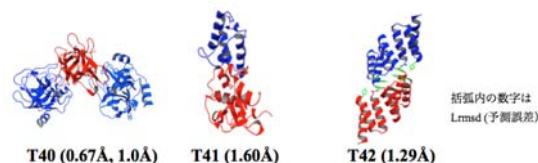
方法のところで述べたように、何が、どのように相互作用するのかに関して、それぞれ対応する成果を上げることができた。(1) 何が相互作用するのかに関しては、遺伝子共発現データベース COXPRESdb を構築し、2007年1月に公開することが出来た。公開時は、ヒト・マウスを対象としてきたが、その後も開発を行い、現在は全部で7種の生物を扱うデータベースとなった。公開直後より本特定領域内に限らず、幅広い利用が行われ、2008年賀8万アクセス、2009年には14万アクセスを超える利用が行われた。現在は、結果が比較的早く出るバイオインフォマティクスの二次利用が先行しているが、すでにいくつかの実験的な利用もすすんでおり、アクセス数から考えると、近いうちに時間の必要な実験的な検証を含む利用結果も出ることが期待される。また、共発現指標に関しても、改良を続け、多次元共発現指標の開発を行う事ができた。この指標は、これまでたった1つの指標で複雑な共発現関係を評価していた問題を解決し、同じデータから複雑な関係を表現できる多次元指標を導き出した画期的な手法である。今後は、この多次元共発現指標の生物学的な意味の検証などを行い、COXPRESdb の信頼性をさらに向上させていきたい。



遺伝子共発現ネットワークの例

(2) 複合体の構造予測に関しては、本特定領域の期間中の初期にドッキングシミュレーションの手法の開発を行い、後半で複合体

高精度複合体構造モデリング(2009年のCAPRIで世界トップレベルの予測結果)



構造の尤もらしさを評価する評価関数の開発を行う事ができた。この分野ではCAPRIと呼ばれる複合体の予測コンテストがあるが、最終年度の2009年には図に示すように、ほぼX線結晶構造解析と遜色のない予測結果を出す事が出来るところまで方法を成熟させることができた。我々の方法の精度は、いくつかの問題では世界トップの予測結果である。

シミュレーションに関しては、約2000分子のDPPCとタンパク質(アラメシチンとアクアポリン)を含む大きな系(約40万原子)で平衡化後に100ナノ秒のシミュレーション

を行った。その結果、これまで小さな膜系では得られなかった大きな膜のうねりと、そのうねりがタンパク質の影響で周囲 10nm の範囲で抑制される事を見いだした。これは、膜タンパク質が単体で存在する時と、トランスポートソームの様に複数集まって居るときでは、タンパク質の周辺における膜環境が大きく異なる事を示唆していると考えている。以上のように、本研究では実体を持った相互作用ネットワークの構築を目指して、何がどのように相互作用するのかに関して、それぞれ研究を行ってきた。大規模シミュレーションで予想外に時間が掛かった以外は、当初目的よりも良い結果を出すことができたと考えている。特に、遺伝子共発現データベースと高精度の複合体の予測は今後の研究の柱となるものである。

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)

[雑誌論文] (計 20 件)

- (1) T Obayashi and K Kinoshita, Rank of correlation coefficient as a comparable measure for biological significance of gene coexpression, *DNA research*, 16, 5, 249-260, Sep, 2009, 査読有
- (2) Y Tsuchiya, E Kanamori, H Nakamura and K Kinoshita, Classification of hetero-dimer interfaces using docking models and construction of scoring functions for the complex structure prediction, *Adv. Appl. Bioinfo. Chem.*, 2, 1, 79-100, Sep, 2009, 査読有
- (3) M Shirota, T Ishida and K Kinoshita, Analyses on hydrophobic characteristics and attractive effects induced by the different reference states in all-atom-distance-dependent potentials, *Protein Sci.*, 18, 9, 1906-1915, Sep, 2009, 査読有
- (4) K Kinoshita and T Obayashi, Multi-dimensional correlations for gene coexpression and application to the large-scale data of Arabidopsis, *Bioinformatics*, 25, 20, 2677-2684, Jul, 2009, 査読有
- (5) M Maeda and K Kinoshita, Development of new indices to evaluate protein-protein interfaces: Assembling space volume, assembling space distance, and global shape descriptor, *J. Mol. Graph. Mod.*, 27, 6, 706-711, Feb, 2009, 査読有
- (6) T Obayashi, S Hayashi, M Saeki, H Ohta and K Kinoshita, ATTED-II provides coexpressed gene networks for Arabidopsis, *Nucleic Acids Res*, 37, Database issue, D987-991, Jan, 2009, 査読有

(7) M Higurashi, T Ishida, and K Kinoshita, PiSite: a database of protein interaction sites using multiple binding states in the PDB, *Nucleic Acids Res*, 37, Database issue, D360-364, Jan, 2009, 査読有

(8) Y Tsuchiya, H Nakamura and K Kinoshita, Discrimination between biological interfaces and crystal-packing contacts, *Adv. Appl. Bioinfo. Chem.*, 1, 1, 99-113, Nov, 2008, 査読有

(9) M Shirota, T Ishida, and K Kinoshita, Effects of surface-to-volume ratio of proteins on hydrophilic residues, decrease in occurrence and increase in buried fraction, *Protein Sci*, 17, 9, 1596-1602, Jun, 2008, 査読有

(10) T Ishida and K Kinoshita, Prediction of disordered protein regions based on meta-approach, *Bioinformatics*, 24, 11, 1344-1348, Apr, 2008, 査読有

(11) T Ikura, K Kinoshita, and N Ito, A cavity with an appropriate size is the basis of the PPIase activity, *Protein Eng Des Sel*, 21, 2, 83-89, Feb, 2008, 査読有

(12) T Obayashi, S Hayashi, M Shibaoka, M Saeki, H Ohta and K Kinoshita, COXPRESdb: a database of coexpressed gene networks in mammals, *Nucleic Acids Res*, 36, Database issue, D77-82, Jan, 2008, 査読有

(13) M Higurashi, T Ishida and K Kinoshita, Identification of transient hub proteins and the possible structural basis for their multiple interactions, *Protein Sci*, 17, 1, 72-78, Jan, 2008, 査読有

(14) E Kanamori, Y Murakami, Y Tsuchiya, DM Standley, H Nakamura and K Kinoshita, Docking of protein molecular surfaces with evolutionary trace analysis, *Proteins*, 69, 4, 832-838, Dec, 2007, 査読有

(15) K Kinoshita, Y Murakami and H Nakamura, eF-seek: prediction of the functional sites of proteins by searching for similar electrostatic potential and molecular surface shape, *Nucleic Acids Res*, 35, Web server issue, W398-402, Jun, 2007, 査読有

(16) T Ishida and K Kinoshita, PrDOS: prediction of disordered protein regions from amino acid sequence, *Nucleic Acids Res*, 35, Web Server issue, W460-464, Jun, 2007, 査読有

(17) Y Hosaka, M Iwata, N Kamiya, M Yamada, K Kinoshita, Y Fukunishi, K Tsujimae, H Hibino, Y Aizawa, A Inanobe, H Nakamura and Y Kurachi, Mutational analysis of block and facilitation of HERG current by a class III anti-arrhythmic agent,

nifekalant, Channels, 1, 1, 198-208, May, 2007, 査読有

(18) T Obayashi, K Kinoshita, K Nakai, M Shibaoka, S Hayashi, M Saeki, D Shibata, K Saito and H Ohta, ATTED-II: a database of co-expressed genes and cis elements for identifying co-regulated gene groups in Arabidopsis, Nucleic Acids Res, 35, Database issue, D863-869, Jan, 2007, 査読有

(19) Y Tsuchiya, K Kinoshita, N Ito and H Nakamura, PreBI: prediction of biological interfaces of proteins in crystals, Nucleic Acids Res, 34, Web server issue, W320-324, Jul, 2006, 査読有

(20) Y Tsuchiya, K Kinoshita and H Nakamura, Analyses of homo-oligomer interfaces of proteins from the complementarity of molecular surface, electrostatic potential and hydrophobicity, Protein Eng Des Sel, 19, 9, 421-429, Jul, 2006, 査読有

[学会発表] (計 10 件)

(1) K Kinoshita, Multi-dimensional correlations for gene coexpression and application to the large-scale data of Arabidopsis, Bioinformatics beyond omics data analyses, December 4, 2009, Ochanomizu University

(2) K Kinoshita, Web services for function prediction of proteins, Bioinfo2009, November 4, 2009, The Haeundae Grand Hotel, Busan, Korea

(3) 木下賢吾, 機能未知タンパク質の機能推定法の開発、第82回日本生化学大会、2009年10月21日、神戸ポートピアアイランド

(4) K Kinoshita, COXPRESdb: gene coexpression database for Human, mouse and rat, XXXVI International congress of Physiological Sciences, July 29, 2009, Kyoto International conference center

(5) K Kinoshita, Classification of hetero-dimer interfaces and development of multiple scoring functions for complex structure predictions of proteins, International symposium on multi-scale dynamics of protein complex formation and function, July 14, 2009, Sanjo Conference Hall, The University of Tokyo

(6) 木下賢吾, 類似性検索による遺伝子機能推定、情報処理学会アルゴリズム研究会・特別講演、2009年5月11日、東京大学医科学研究所

(7) K Kinoshita, A new multi-dimensional index for gene coexpression and application to the large-scale data of Arabidopsis, The 1299th Biological Symposium at National Institute of Genetics, Mar, 31, 2009, National Institute of Genomics

(8) K Kinoshita, Coexpressed gene database for human, mouse, rat and Arabidopsis, Japan-UK symposium on protein informatics toward interactome analysis, Sep., 1, 2008, Senri Life science center

(9) 木下賢吾, Ordered and Disordered Structure of Proteins, タンパク質研究の未来像、2008年3月7日東海大学

(10) E Kanamori, Y Murakami, Y Tsuchiya, D Standley, K Kinoshita, H Nakamura, Prediction of protein-protein interaction using evolutionary trace method and molecular surface complementarity, CAPRI evaluation meeting, Apr, 21, 2007, Toronto Canada

[図書] (計 5 件)

(1) K Kinoshita, H Kono, K Yura, Prediction of protein structures, functions and interactions, Wiley and Sons, 159-186, 2009

(2) 木下賢吾, 立体構造からのタンパク質機能予測: 現状と展望、遺伝子医学MOOK、14, 60-65, 2009

(3) 伊倉貞吉, 木下賢吾, 伊藤暢聡, ペプチジルプロリルイソメラーゼの構造・機能相関、蛋白質核酸酵素、54, 167-172, 2009

(4) 木下賢吾, タンパク質の機能部位の予測、実験医学増刊号(バイオインフォマティクスツールの開発と生命研究への応用の最前線)、26, 1093-1098, 2008

(5) 木下賢吾, タンパク質間相互作用に関するデータベースの構築、生体の科学、58, 334-337, 2007

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://coxpresdb.jp>

<http://pisite.hgc.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木下 賢吾 (KINOSHITA KENGO)

東北大学・大学院情報科学研究科・教授

研究者番号：60332293

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

中村春木 (NAKAMURA HARUKI)

大阪大学・蛋白質研究所・教授

研究者番号：80134485