

令和 5 年 5 月 4 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2022

課題番号：17K00405

研究課題名（和文）天然変性領域の動態を考慮したヒトSTINGの新規リガンド探索と活性化機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the STING activation mechanism considering the dynamics

研究代表者

土屋 裕子（Tsuchiya, Yuko）

国立研究開発法人産業技術総合研究所・情報・人間工学領域・主任研究員

研究者番号：30557773

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：自然免疫系タンパク質STINGの遺伝子変異により引き起こされる過剰活性化による自己免疫疾患の発症機構解明のため、シグナル伝達解析によく利用されるPDZやGPCRタンパク質を例に、アミノ酸変異やリガンド結合が導くタンパク質の微細な揺らぎの変化を抽出する手法（Tsuchiya et al, JCI, 2019; Tsuchiya et al, SciRep, 2021）を開発した。ヒトSTINGの野生型、リガンド結合型および変異体の膜貫通領域を含む全原子モデルを構築し、より複雑なSTING系への応用を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

突然変異やリガンド結合などの「刺激」によって生じるタンパク質側鎖構造の微細な変化は、小さな揺らぎとして遠く離れた場所に伝達され機能に影響を及ぼすことが知られている。「ダイナミックアロステリー」と呼ばれるこの現象の理解は、創薬や疾病発症機構解明に有用な情報を与える。本研究で開発した分子動力学シミュレーションと深層学習を用いたダイナミックアロステリー解析法は、汎用性の高い手法であるため様々なタンパク質系への応用が可能であり、学術的意義のある研究である。

研究成果の概要（英文）：To detect essential residues involved in the signal transmission in the mechanisms of diseases, AI-based methods was developed that detects those residues by comparing the fluctuation data during molecular dynamics simulations between two states of proteins. For the development of the methods, the trajectories of the simulations of commonly-used PDZ and GPCR proteins were used. To apply this method to the signaling in STING system, the structural modeling and analyses of STING in apo, holo, and mutant forms were performed.

研究分野：構造バイオインフォマティクス

キーワード：構造バイオインフォマティクス シミュレーション 深層学習 創薬

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

自然免疫において重要な役割を担う Stimulator of Interferon Genes (STING) タンパク質のリガンド結合ドメインの立体構造が 2013 年に決定され (Zhang et al, Mol Cell, 2013)、内在的な活性化リガンドの結合によるリガンド結合ポケット周辺の構造変化と、約 30 残基の天然変性領域の存在が明らかとなった。天然変性領域は下流のタンパク質との相互作用 (リン酸化等) に関わることが分かっているが、分子動力学シミュレーションや構造バイオインフォマティクス解析により、天然変性領域の動態はリガンド結合によって生じるポケット周辺の構造変化の影響を受けることが示唆された (Tsuchiya et al, EBioMedicine, 2016)。また 2014 年には、突然変異による STING タンパク質の恒常的活性化が引き起こす自己免疫疾患の症例が初めて報告された (Liu et al, N Engl J Med, 2014)。これまでに疾患発症に関わるとされる十数アミノ酸が報告されているが、いずれもリガンド結合部位や天然変性領域ではない領域に存在する。このようにリガンド結合およびアミノ酸変異ともに STING タンパク質の活性化を惹起するが、これまでのところ両事象の詳細な機構は明らかになっていない。

### 2. 研究の目的

本研究では、分子動力学シミュレーション、深層学習および構造バイオインフォマティクスを利用し、(1) リガンド結合による STING タンパク質の活性化機構の解明、(2) STING のアミノ酸変異による恒常的活性化機構の解明、を目指す。具体的には、(1) リガンド結合によるポケット周辺の構造変化および天然変性領域の動態変化と、STING の活性化との相関の解明、(2) アミノ酸変異箇所周辺の側鎖構造変化が導くシグナル伝達経路の解析と、この結果として生じる恒常的活性化機構の解明、を目指す。

### 3. 研究の方法

(1) リガンド結合による STING タンパク質の活性化機構の解明:

結合活性が異なる複数の既知リガンドを各々結合させた、天然変性領域も含む STING 構造モデルを利用し、構造変化をあえて促進するシミュレーションの実行により、リガンドの結合活性と構造変化の関係を明らかにする。

(2) STING のアミノ酸変異による恒常的活性化機構の解明:

恒常的活性化を引き起こすアミノ酸変異によって STING タンパク質の立体構造が大きく変化しないことや、変異箇所が機能部位から離れている等の理由から、ダイナミックアロステリーの観点から恒常的活性化機構の解析を実施する。具体的には、野生型とリガンド結合や変異導入後の STING タンパク質モデルのシミュレーションをそれぞれ実行し、深層学習により二者間のトラジェクトリの比較分析を行う。

### 4. 研究成果

(1) リガンド結合による STING タンパク質の活性化機構の解明:

リガンド種 (すなわち結合活性値) により、リガンド結合部位周辺や天然変性領域の構造変化が導くタンパク質 - リガンド相互作用の変化が大きく異なることを見出した。具体的には、強活性化リガンドが結合した STING タンパク質においては、構造変化を強いタンパク質領域を含むタンパク質 - リガンド相互作用の多くが複数のプロダクトランにおいて維持されたが、非活性化リガンドが結合した STING では、全プロダクトランにおいて相互作用形成数は大きく減少し、さらにプロダクトラン毎に異なる相互作用変化の傾向を示した。この結果は、構造変化および相互作用変化と活性化能との関連性を示唆するものであり、活性評価シミュレーションの構築に寄与すると考えている。

(2) STING のアミノ酸変異による恒常的活性化機構の解明:

タンパク質のシミュレーションで得られた二状態 (リガンド結合と非結合状態、野生型と変異型等) のトラジェクトリを比較し、リガンド結合や変異導入によるタンパク質の微細な揺らぎ変化を抽出する深層学習法に基づく手法の開発を行った。STING タンパク質はリガンド結合ドメインと膜貫通ドメインで形成され、生物学的単位はホモ二量体であるため、手法開発には単量体でかつ単一ドメインで構成されるシグナル伝達系タンパク質 PDZ2 を利用した (Tsuchiya et al, JCI, 2019)。さらに、本手法をより複雑な系に応用するため、リガンド結合により活性化する G タンパク質共役受容体 (GPCR) と GPCR の活性化により相互作用が可能となる細胞内 G タンパク質との複合体の解析を実施した。この結果、訓練データには細胞内 G タンパク質との結合に関する情報が含まれていないにも関わらず、G タンパク質認識に関わる GPCR アミノ酸の揺らぎ変化を抽出することができた (Tsuchiya et al, SciRep, 2021)。本手法を STING の恒常的活性化のメカニズムの解明に応用するため、電子顕微鏡解析によって決定された最新の構造データを利用し、

野生型、リガンド結合型および変異体のヒト STING 全原子モデル(膜貫通領域を含む)を構築した。また、モデルの構造観察・比較等を基に深層学習モデルを検討した。今後も STING タンパク質の恒常的活性化機構の解明を目指し研究を継続する。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Taneishi Kei, Tsuchiya Yuko	4. 巻 73
2. 論文標題 Structure-based analyses of gut microbiome-related proteins by neural networks and molecular dynamics simulations	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Current Opinion in Structural Biology	6. 最初と最後の頁 102336 ~ 102336
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.sbi.2022.102336	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Tsuchiya Yuko, Taneishi Kei, Yonezawa Yasushige	4. 巻 11
2. 論文標題 Autoencoder-based detection of the residues involved in G protein-coupled receptor signaling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19867
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-99019-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yuko Tsuchiya, Kei Taneishi, Yasushige Yonezawa	4. 巻 59
2. 論文標題 Autoencoder-Based Detection of Dynamic Allosteric Triggers by Ligand Binding Based on Molecular Dynamics	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Chem. Inf. Model.	6. 最初と最後の頁 4043-4051
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jcim.9b00426	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 土屋裕子、水口賢司	4. 巻 36
2. 論文標題 生物学研究の仮説生成のためのシミュレーション：学際研究への応用に向けて	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 シミュレーション	6. 最初と最後の頁 139-144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 土屋裕子、種石慶、米澤康滋
2. 発表標題 オートエンコーダーに基づくGPCRシグナル伝達経路解析
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tsuchiya Y, Taneishi K, Yonezawa Y
2. 発表標題 Autoencoder-based analyses of dynamic allostery on GPCR
3. 学会等名 第58回日本生物物理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tsuchiya Y, Taneishi K, Yonezawa Y
2. 発表標題 Autoencoder-based analyses of dynamic allostery on proteins by regulator binding
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsuchiya Y, Taneishi K, Yonezawa Y
2. 発表標題 Autoencoder-based Analyses of Dynamic Allostery on Proteins by Regulator Binding
3. 学会等名 CBI学会2019年大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 土屋裕子、種石慶、米澤康滋
2. 発表標題 Effects of single mutations on STING activation
3. 学会等名 CBI学会2018年大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 土屋裕子、水口賢司
2. 発表標題 分子動力学シミュレーションによる化合物活性の評価法の構築
3. 学会等名 第17回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関