

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：12401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K21380

研究課題名（和文）タイリングによるウイルス外殻のボトムアップ設計

研究課題名（英文）Bottom-up design of virus capsids using tiling

研究代表者

松永 康佑（Matsunaga, Yasuhiro）

埼玉大学・情報メディア基盤センター・准教授

研究者番号：60464525

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究はウイルス外殻構造を形作る相互作用パターンを特徴付ける目的とする。そのために、二十面体の球面タイリングの理論に基づく方法を適用した。具体的には、対称性の交点に位置する二面体を切り開くことで外殻の部品（サブユニット）の形を特徴付けることを提案した。実際の外殻構造を分類したところ同じ $T=1$ グループであっても、5回と3回対称軸を中心としたインタフェースの面積が異なるものがあると判明した。さらに分子ドッキングシミュレーションを行いそれを検証し、初期の自己集合過程の核形成において異なるルートが存在することが示唆された。この手法一般的であり、将来的に $T=1$ を超える広い範囲へ適用可能である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ウイルス外殻構造はこれまでCaspar-Klugらによる準等価理論による特徴付けがなされてきた。これは、正二十面体の外殻構造における6回対称軸のインタフェースをできる限り歪ませずに5回対称軸に置き換える分類を与える理論である。この理論により様々なサイズの外殻構造を分類できているが、インタフェースそのものの形にどのようなバリエーションがあるのかを与える理論は存在しなかった。本研究で開発した2面体の切り開き手法は、あり得るインタフェースの形を与えることができる。これを拡張することで、外殻を構成しうるサブユニットの形を網羅でき、ドラッグデリバリーのためのナノカプセルの設計研究への展開を期待できる。

研究成果の概要（英文）：This study aims to characterize the structure and self-assembly process of viral capsids. We employed a method based on the theory of spherical tiling, considering the symmetries in icosahedrons (3-fold, 5-fold, and 2-fold) and their geometric relationships. Specifically, we proposed to form the capsid subunits through expansions of a dihedron, located at the intersection of these symmetries. This method was used to categorize actual capsid structures, demonstrating that, even within the same $T=1$ group, capsids can differ significantly in their interface areas around the 5-fold and 3-fold symmetry axes. Further, molecular docking simulations support this classification, reflecting the actual physical interaction energies between subunits and suggesting that the subunits may take different routes in the early stage of self-assembly. Our representation is general and applicable to a wider range of classes beyond $T=1$.

研究分野：生物物理

キーワード：準等価理論 タイリング ドッキングシミュレーション

1. 研究開始当初の背景

ウイルスは、遺伝情報とそれを包む正二十面体の外殻構造を持つ(図 1a)。外殻の主な役割は遺伝情報を包んで外敵から保護することにあるが、ウイルスの持つ遺伝情報は非常に少なく、自分の外殻を丸ごとコードするタンパク質を作れない。そこで効率性を重視して、ウイルス外殻は同じ種類の小さなタンパク質を何個も生成し自己集合させて作られている。一方で、RNA・DNA 分子のサイズはウイルスによって大きく異なっており、外殻のサイズも異なる(図 1a)。それにもかかわらず、ウイルス外殻は種に依らずほぼ同じサイズのタンパク質 (サブユニット) を使いまわして、多様結合パターンで多様なサイズの正二十面体の形成を実現している。

多様なサイズの正二十面体がどのようにして実現されているのだろうか? どのような形のサブユニットが正二十面体構造へ自己集合することができるのか? その必要十分条件は何だろうか? こうした問いの中で特にサイズの問題に対して一定の答えを与えているのが Caspar と Klug による準等価理論である(Caspar and Klug, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 1962)。準等価理論は正二十面体の展開図を基にしている。正二十面体の展開図は、平面を埋め尽くす正三角形タイルが持つ 6 回対称軸を 5 回対称軸へ入れ替えることで作成することができる(図 1b)。Caspar と Klug は、6 回対称軸を 5 回対称軸へ入れ替えるにあたって、5 回対称軸周りのサブユニット間の相互作用 (インタフェース) ができるべく歪まずに配置される正三角形のパターンを系統的に作れることを発見した(図 1b のグレーの三角形)。この三角形のパターンを Triangulation (T) number と呼び、 $T=1, 3, 4, 7, \dots$ しか存在しないことが知られている。例えば、 $T=1$ の三角形には 3 個のタンパク質が含まれ、 $T=3$ には 9 個のタンパク質が含まれる、という関係性を持つ。実際、多くのサイズの外殻構造が T number でよく分類できることがわかっている。

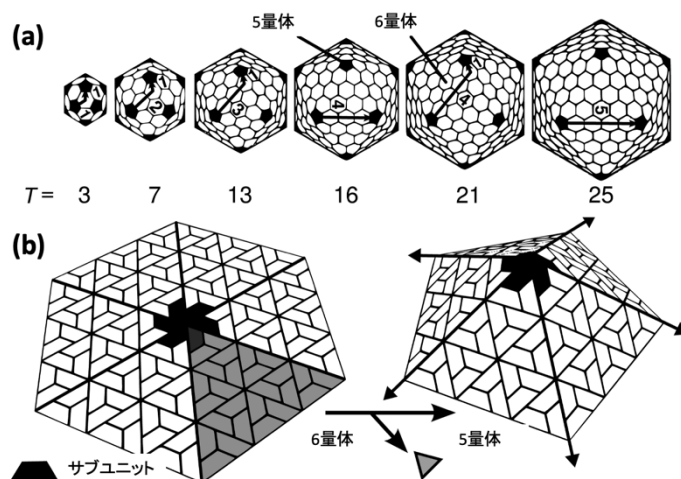


図 1: 準等価理論の概念図。a 様々なサイズのウイルス外殻。b 準等価理論における正二十面体の展開図と 6 回対称と 5 回対称の入れ替え。Mannige and Brooks, *PLoS ONE* 2010 より CC-BY ライセンスの範囲で改変・転載

2. 研究の目的

Caspar と Klug による準等価理論により様々な外殻構造のサイズは分類できているが、サブユニット構造が形成するインタフェースそのものの形にどのようなバリエーションがあるのかを与える理論は存在しない。また近年、多くの外殻構造が解明されるとともに、準等価理論から外れる外殻が多く見つかっている。サブユニット同士がインターフェースで結合し、自己集合することで外殻が生成される必要十分条件は何か? どのようなサブユニット形状ならばインターフェースを形成できるのか? それを明らかにして外殻構造の設計原理へ迫ることが本研究の目的である。準等価理論では暗黙のうちに各タンパク質の形状を無視して正三角形に限定してタイリングを考えている。そこで、本研究はタイリング理論に基づいてサブユニット構造が形成するインタフェース形状を陽に記述・分類可能にし、外殻構造の設計原理を得て自己集合するためのサブユニット間相互作用に関する知見を得る。

3. 研究の方法

上記の目的を達成するために、研究の方法を 3 つの段階に分けて実施した。(1) **タイリング理論の開発**: 外殻構造を作成するための球面タイリング理論を開発し、サブユニットタンパク質とそれが形作るインタフェースの形状を陽に扱い、分類可能にする。そのために、平面タイリング理論を球面へ適用可能にする研究を行った。(2) **外殻構造データの分類**: 開発した理論に基づいて、ウイルス外殻構造データベース(VIPERdb <https://viperd.org>)に登録されている実際の外殻構造を分類する。実際に構造データの原子座標を点群として扱い、開発したタイリング理論に基づいて分類するプログラムを開発し適用した。(3) **ドッキングシミュレーション**: 得られた分類が、実際の自己集合プロセスと関連しているかを調べるために、物理化学的な相互作用(エネルギー)

の観点から検証する。そのために、2つのサブユニット同士のドッキングシミュレーションを行い、エネルギー的に生じやすいインタフェースを調べ、タイルング理論の分類との対応関係を調べた。

4. 研究成果

(1) タイルング理論の開発

まず平面タイルングにおける P6 空間群のタイルングを参考にして、そこから準等価理論と同じように 6 回対称軸を 5 回対称軸に置き換えることで、正二十面体を作ることを検討した。P6 空間群のタイルには 4 つのタイプの形状が存在することがわかっており、それによって外殻構造を分類することを試みた。しかし、分類方法を検討しているうちに、実際の外殻構造は 4 つの極端なタイプに分類することは難しく、連続的な指標を用いて定量的に分類する必要があることが判明してきた。そこで試行錯誤の結果、以下のような「2 面体」の切り開きによってタイルを作成する、という着想を得た：球面を 120 等分して得られた直角三角形を 2 枚封筒状に閉じた「2 面体」の一面に自在にハサミを入れて一枚に切り開く (図 2)。この形状は切り開き方に依存せず $T=1$ で球面をタイルングできる。この視点からは、準等価理論の正三角形タイルは 2 面体自体を合同な部品に分割して $T=1$ 問題を解いた特殊ケースと捉えられる。しかしそれ以外も、切り開きの点をどこに置くかで連続的に任意のタイル形状を分類することができる。構造データベースに存在する外殻構造とをマニュアルで比較した結果、この手法で網羅的に分類できる見込が得られた。

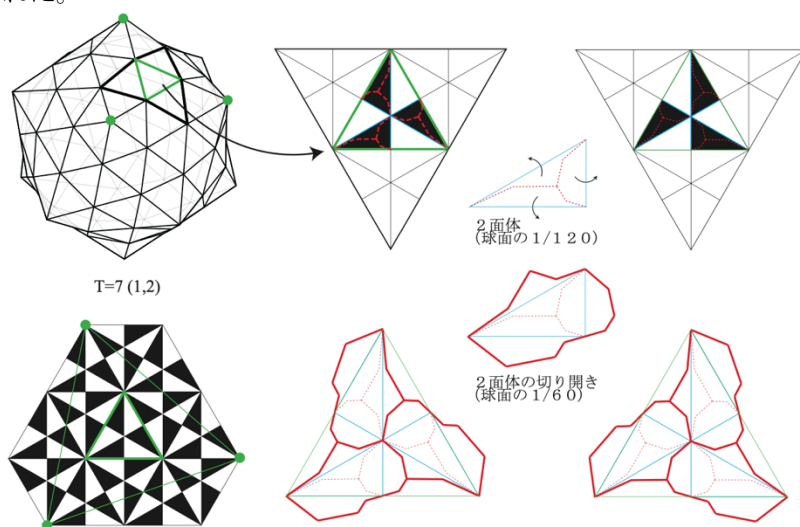


図 2: 「2 面体」の切り開きによるタイル形状の記述の概念図。

(2) 外殻構造データの分類

ウイルス外殻構造データベース(VIPERdb <https://viperd.org>)に登録されている実際の外殻構造から、解像度が良く二十面体の対称軸が高精度で定まっている構造を用いて、タイルング理論による分類を行った。参照のために選んだ正二十面体構造をつくらない Tabacco Mosaic Virus や、全く空間規則性を持たない Chymotrypsin Inhibitor の NMR 構造も含めて、 $T=1$ グループの外殻構造から 10 個の構造の分類計算を行った。分類計算では、まず前処理として、ひとつのサブユニット構造の原子座標から不斉炭素原子の座標を抜き出し、2 回対称軸が XYZ 軸になるように揃えた上で、正二十面体の半径が単位長さになるように座標のスケーリングなどした。その後、不斉炭素原子の座標に対してフィッティングを行い、サブユニットの表面形状を求めた上で、その表面形状が 2 面体のどの点を切り開くことで作成できるかを求めて分類を行った。以上のフィッティングから分類までの計算を行うプログラムを Grasshopper 上で作成した。分類の結果、同じ $T=1$ グループに属するにもかかわらず、外殻構造によってサブユニット間のインタフェースの面積が大きい箇所が異なることがわかった。具体的には、5 回対称軸周りとは 3 回対称軸周りのどちらかでインタフェースの面積が大きいグループ、更にその中間的なグループが存在することがわかった(図 3)。

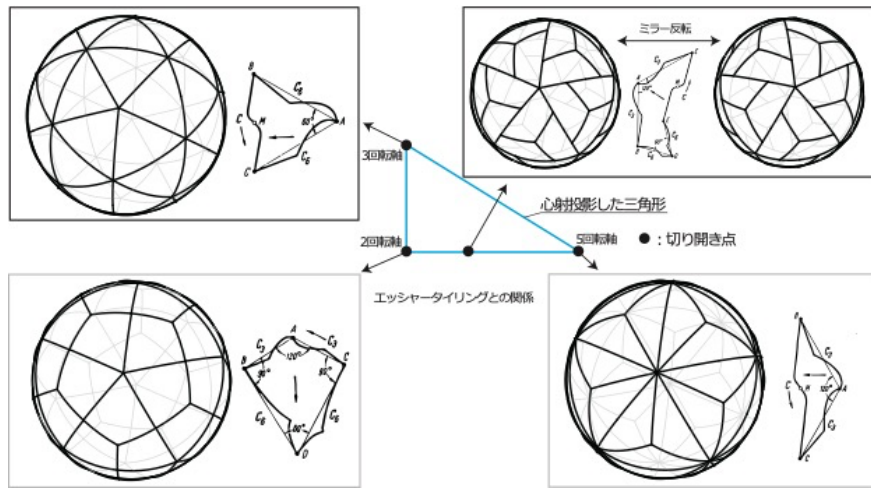


図 3: 2 面体の切り開きの中心点による分類とサブユニット構造・インタフェースとの関係。

(3) ドッキングシミュレーション

外殻構造をタイリング理論で分類した結果が、果たして物理的相互作用(エネルギー)レベルで整合的かを検証するため、2つのサブユニット同士のドッキングシミュレーションを行うことで、どのインタフェースが物理的相互作用の観点から生成されやすいかを調べた。ドッキングシミュレーションでは、ZDOCK を用いてサブユニットを剛体として扱い、一方のサブユニットを固定し、もう一方のサブユニットを網羅的に並進回転させ多様な結合ポーズのドッキングスコアを求めた。そのうち上位 100,000 構造に対して、結合ポーズのスクリー軸を求め、その対称軸や並進の程度を評価した。その結果、タイリング理論で 3 回対称軸が安定化すると分類された外殻構造では、ドッキングシミュレーションでも 3 回対称となる結合ポーズが安定化しており、5 回対称が安定化するグループでも同様にその結合ポーズが安定化することがわかった。これは同じ $T=1$ グループに属していても、自己集合の際に 3 回対称軸を先に形成するか、それとも 5 回対称軸を先に形成するか、核形成のパスウェイが異なることを示唆している。また、参照のために行った Tobacco Mosaic Virus や Chymotrypsin Inhibitor では外殻構造サブユニットで見られた並進がゼロでかつ 3 回対称軸、5 回対称軸周りの安定ポーズが見られなかった。これは、ドッキングシミュレーションとスクリー軸を求めることで、サブユニットが外殻構造を生成するか否かある程度判別できる可能性を示唆している。現在得られた結果をまとめており、速やかに論文として投稿予定である。

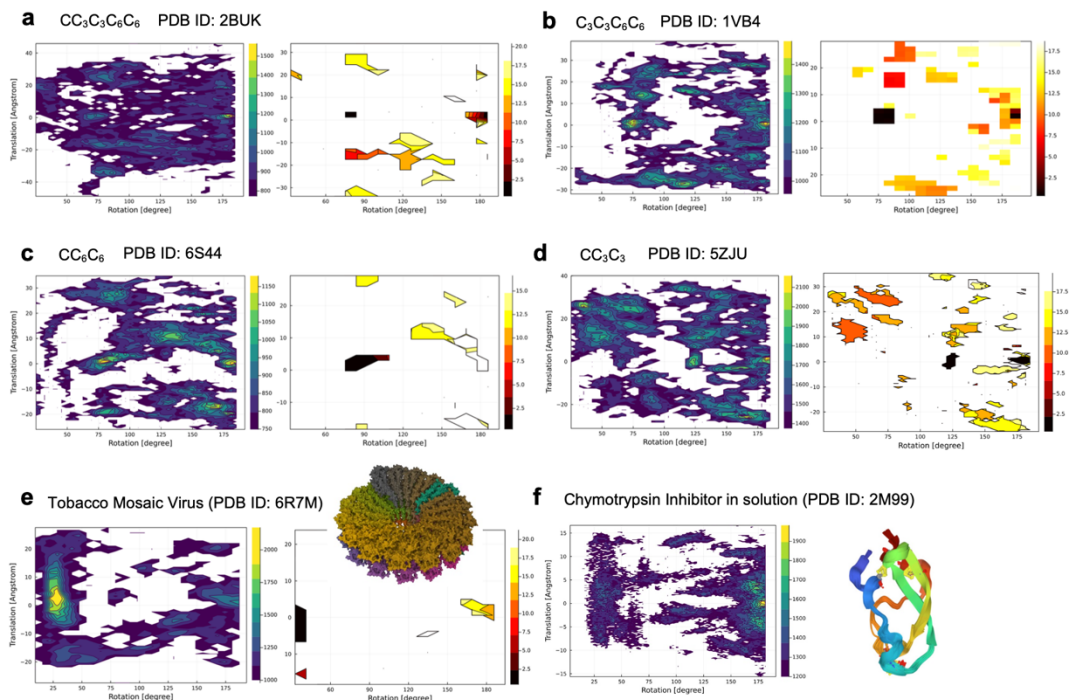


図 4: ドッキングシミュレーションの結果。a-d 正二十面体のウイルス外殻構造のドッキングスコア分布(左図。横軸はスクリー軸周りの回転角で縦軸は並進)と、正解構造からの Root Mean Square Deviation (右図)。e-f 参照系の結果。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 T. Murakami, S. Kumachi, Y. Matsunaga, M. Sato, K. Wakabayashi-Nakao, H. Masaki, R. Yonehara, M. Motohashi, N. Nemoto, and M. Tsuchiya	4. 巻 11
2. 論文標題 Construction of a Humanized Artificial VHH Library Reproducing Structural Features of Camelid VHHs for Therapeutics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Antibodies	6. 最初と最後の頁 10 (18 pages)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/antib11010010	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 R. Higashida, Y. Matsunaga	4. 巻 11
2. 論文標題 Enhanced Conformational Sampling of Nanobody CDR H3 Loop by Generalized Replica-Exchange with Solute Tempering	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Life	6. 最初と最後の頁 1428 (13 pages)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/life11121428	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 松永康佑、藤崎弘士、森次圭	4. 巻 76
2. 論文標題 タンパク質の構造変化をどのように記述するか 生体分子におけるバスサンプリング手法の発展	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本物理学会誌	6. 最初と最後の頁 714-722
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 -
1. 著者名 C. Kobayashi, Y. Matsunaga, J. Jung, Y. Sugita	4. 巻 118
2. 論文標題 Structural and energetic analysis of metastable intermediate states in the E1P-E2P transition of Ca ²⁺ -ATPase	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America	6. 最初と最後の頁 e2105507118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2105507118	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 T. Niina, Y. Matsunaga, and S. Takada	4. 巻 17
2. 論文標題 Rigid-body fitting to atomic force microscopy images for inferring probe shape and biomolecular structure	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLoS Computational Biology	6. 最初と最後の頁 e1009215
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pcbi.1009215	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 A. Shinobu, C. Kobayashi, Y. Matsunaga, and Y. Sugita	4. 巻 61
2. 論文標題 Coarse-Grained Modeling of Multiple Pathways in Conformational Transitions of Multi-Domain Proteins	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Information and Modeling	6. 最初と最後の頁 2427-2443
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jcim.1c00286	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 -

1. 著者名 Matsunaga Yasuhiro, Fuchigami Sotaro, Ogame Tomonori, Takada Shoji	4. 巻 13
2. 論文標題 End-to-end differentiable blind tip reconstruction for noisy atomic force microscopy images	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-27057-2	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 Ogame Tomonori, Noshiro Daisuke, Ando Toshio, Yamashita Atsuko, Sugita Yuji, Matsunaga Yasuhiro	4. 巻 18
2. 論文標題 Development of hidden Markov modeling method for molecular orientations and structure estimation from high-speed atomic force microscopy time-series images	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS Computational Biology	6. 最初と最後の頁 e1010384
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pcbi.1010384	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 Matsunaga Yasuhiro, Kamiya Motoshi, Oshima Hiraku, Jung Jaewoon, Ito Shingo, Sugita Yuji	4. 巻 14
2. 論文標題 Use of multistate Bennett acceptance ratio method for free-energy calculations from enhanced sampling and free-energy perturbation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biophysical Reviews	6. 最初と最後の頁 1503 ~ 1512
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12551-022-01030-9	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 松永康佑, 東田連	4. 巻 17号
2. 論文標題 gRESTシミュレーションによるVHH抗体の構造サンプリング	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 理論化学会誌「フロンティア」	6. 最初と最後の頁 13 ~ 22
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 -

1. 著者名 Seri Nishimoto, Takashi Horiyama, and Tomohiro Tachi	4. 巻 26
2. 論文標題 Geodesic Folding of Regular Tetrahedron	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal for Geometry and Graphics	6. 最初と最後の頁 081 ~ 100
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 15件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 堀山貴史
2. 発表標題 あみたくじと菱形タイリングの列挙
3. 学会等名 人工知能学会 第119回人工知能基本問題研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松永康佑
2. 発表標題 実験とシミュレーションを統合した生体分子構造ダイナミクスのモデリング
3. 学会等名 第40回関東CAE懇話会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松永康佑
2. 発表標題 実験とシミュレーションを統合した生体分子構造ダイナミクスのモデリング
3. 学会等名 第19回新学術「高速分子動画」オンラインセミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松永康佑
2. 発表標題 生体分子系の分子動力学シミュレーションデータの解析入門
3. 学会等名 第4回スパコンコロキウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松永康佑
2. 発表標題 生体分子構造ダイナミクスの統合モデリング
3. 学会等名 第3回ピコバイオロジー研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松永康佑
2. 発表標題 生体分子構造ダイナミクスの統合モデリング
3. 学会等名 第4回ワークショップ「レア・イベント解析とデータ科学」(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松永康佑
2. 発表標題 生体分子構造ダイナミクスの統合モデリング
3. 学会等名 統計物理と統計科学のセミナー(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松永康佑
2. 発表標題 VHH抗体の構造と熱安定性のモデリング
3. 学会等名 計算メディカルサイエンスワークショップ2021(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松永康佑
2. 発表標題 計測とシミュレーションを統合したタンパク質ダイナミクスのモデリング
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yasuhiro Matsunaga
2. 発表標題 Integrative modeling of protein dynamics from single-molecule experiments and molecular dynamics simulations
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 Yasuhiro Matsunaga
2. 発表標題 Integrative modeling of protein dynamics from experimental data and molecular dynamics simulations
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松永康佑
2. 発表標題 実験とシミュレーションを統合したタンパク質ダイナミクスのモデリング
3. 学会等名 第22回日本蛋白質科学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yasuhiro Matsunaga
2. 発表標題 Integrative Modeling of Protein Dynamics from High-Speed Atomic Force Microscopy and Molecular Dynamics Simulations
3. 学会等名 Frontier of Dynamic Structural Biology (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yasuhiro Matsunaga
2. 発表標題 Integrative modeling of biomolecular dynamics from simulations and experiments
3. 学会等名 The 5th R-CCS international symposium (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松永康佑
2. 発表標題 機械学習を用いた実験データとシミュレーションデータの統合モデリング(データ同化)
3. 学会等名 蛋白質データサイエンスセミナー (招待講演)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 松永康佑	4. 発行年 2020年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 8
3. 書名 実験医学増刊 Vol.38 No.20 機械学習を生命科学に使う!	

〔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
研究分担者	館 知宏 (Tachi Tomohiro) (50586740)	東京大学・大学院総合文化研究科・教授 (12601)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	堀山 貴史 (Horiyama Takashi) (60314530)	北海道大学・情報科学研究院・教授 (10101)	

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