

令和 6 年 6 月 27 日現在

機関番号：74408
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2021～2023
課題番号：21K06139
研究課題名(和文) 機械学習からの特徴抽出法を用いた多様なリガンド認識を生み出す機構の法則性の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism responsible for diverse ligand recognition using feature extraction methods from machine learning

研究代表者
白石 慧 (Shiraishi, Akira)

公益財団法人サントリー生命科学財団・生物有機科学研究所・統合生体分子機能研究部・研究員

研究者番号：50710729
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：Gタンパク共役型受容体(GPCR)とペプチドの配列を入力として相互作用を予測する機械学習モデルを用い、相互作用に寄与する残基を推定できる手法、IDL Scoreを開発した。本手法を用い、MRGX2、およびMRGX1の各特異的リガンド認識(SP, BAM)に重要な残基を推定した。推定した残基を変異することで、本来活性のないSP-MRGX1ペア、BAM-MRGX2ペアで活性化する変異体を見出した。さらに、これら相互作用因子の変異に基づいて他の種のオソログの活性の進化過程を解明した。以上からIDL Scoreは活性に関わる残基だけでなく、受容体の進化における機能獲得の推定も可能であることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、受容体がリガンドを認識に関与する残基の探索は、三次元結晶構造に基づいた相互作用残基の探索か、網羅的な変異体の構築に基づいていた。しかし、前者は直接相互作用がない残基を見出すことは難しく、後者は膨大な変異体実験を要し、時間・コストがかかっていた。本成果により確立した手法は、体系的かつ効率的に受容体とペプチドの相互作用に関わる分子メカニズムを明らかにできる。ペプチドは生体内で様々な生物学的役割を果たしていることから、本研究は内分泌学の発展に寄与する。さらに、ペプチド認識に関わる残基の解明はペプチド認識が関与する点変異が関連する進化や遺伝病のメカニズム解明にもつながる。

研究成果の概要(英文)：We developed IDL Score, a method that can estimate residues contributing to interactions using PD-incorporated SVM, which predicts peptide-GPCR interactions based on the sequence of G protein-coupled receptors (GPCRs) and peptides. Using this method, we estimated the receptor residues that are important for the specific interactions between SP and MRGX2 and BAM and MRGX1, respectively. Based on the estimated residues, we constructed mutants of MRGX1/2 and found the activity for SP-MRGX1 mutant and BAM-MRGX2 mutant pairs, while intact receptors do not interact with these peptides. Furthermore, we elucidated the evolutionary process of activity of orthologs of other species based on mutations in these interacting factors. These results indicate that the IDL Score is useful not only for residues involved in activity, but also for estimating the acquisition of function during receptor evolution.

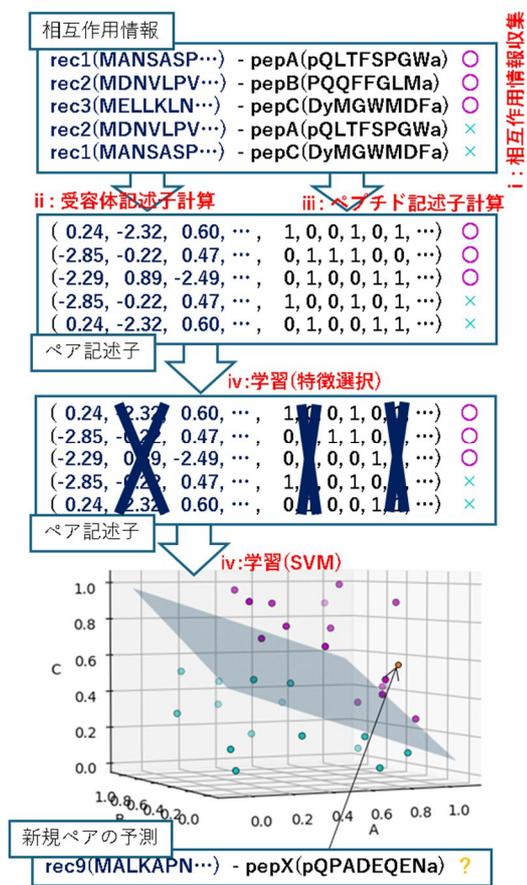
研究分野：バイオインフォマティクス

キーワード：ペプチド MRGX Substance P BAM8-22 機械学習 特徴抽出

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

- (1) 神経ペプチドやペプチドホルモンといったシグナル分子は、生殖、摂食、恒常性の維持、学習、記憶など、生体内で様々な生物学的役割を果たしている。また、ほとんどの神経ペプチドの受容体は GPCR に属している。似た構造のリガンドを持つ GPCR は分子進化系統樹上でクラスターを作ることが知られているおり、既知のペプチド受容体の多くは一つのクラスター(ペプチド性 GPCR クラスター)に属している。しかし近年、神経ペプチドである Substance P (SP)が、ペプチド作動性 GPCR の受容体 NK1R だけでなく分子進化的に遠縁な受容体 MRGPRX2 も活性化することが報告された[Green D. P. et al., Neuron 2019]。さらに、MRGPRX2 と同性を示すパラログである MRGPRX1 は SP とは相互作用せず、代わりに BAM8-22 と呼ばれる、SP とは全く配列の異なるペプチドと相互作用することが知られている。このように、GPCR とペプチドの分子認識には既存の配列相同性や分子系統樹解析では説明できないが、相互作用の有無を規定する部位特異的機能残基(相互作用因子)があり、その相互作用因子の組み合わせにより、配列相同性とは相関しない相互作用パターンが形成されていると考えられた。
- (2) これまで、受容体リガンドを認識に關与する残基の探索は、三次元結晶構造に基づいた相互作用残基の探索か、網羅的な変異体の構築に基づいていた。しかし、前者は直接相互作用がない残基を見出すことは難しく、後者は膨大な変異体実験を要し、時間・コストがかかっており、上述のような複雑な相互作用パターンを説明するには、体系的かつ効率的な相互作用因子探索法が必要であった。
- (3) 他方、申請者は右図に示すような配列相同性や分子系統樹解析に依らない機械学習法、「PD-incorporated SVM」を構築している [Shiraishi A. et. al., PNAS 2019]。この手法では、GPCR とペプチドそれぞれの配列を、各要素とアミノ酸残基が対応可能な形で数値ベクトル(記述子)に変換し、その記述子の特徴量を遺伝的アルゴリズムを使い削減したのちにその外積要素を入力として線形 SVM で活性の有無を判別するモデルを構築している。線形 SVM は1次の判別式によりクラス(つまり、活性の有無)を識別することから、各項の識別への寄与を陽に計算することができる。その性質を用いて、PD-incorporated SVM の判別式から各受容体・ペプチドのアミノ酸ペアが相互作用の有無に分ける影響を推定できるのではないかと考えた。

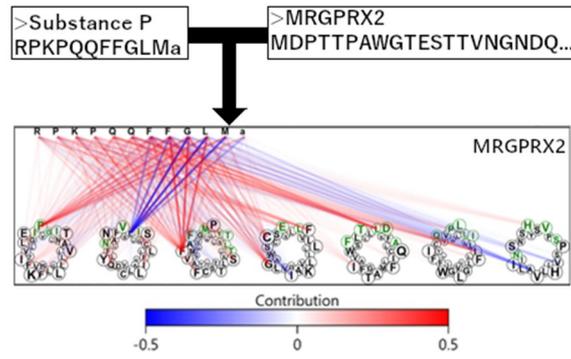


2. 研究の目的

- (1) PD-incorporated SVM から相互作用因子の確からしさ (Interaction Determinant Likelihood Score: IDL Score)を推定する手法を確立する。
- (2) IDL Score を用いて上述の MRGPRX1/2 がなぜそれぞれ BAM と SP とに特異的に相互作用するのかを明らかにする。

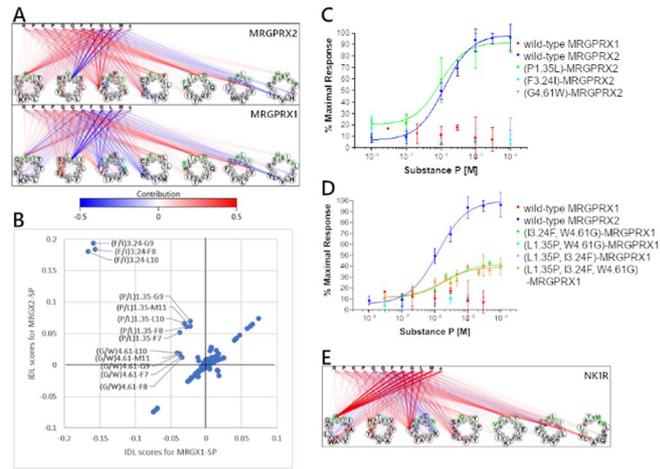
3. 研究の方法

PD-incorporated SVM は我々の先行研究に基づき、本研究の実証研究の一部として行った研究 [Hayakawa E. et. al. Nature Ecology&Evolution 2022] と同一の学習データを用いて構築した。構築した PD-incorporated SVM の判別式の各項の値をペプチド・GPCR 残基ペア毎に合計し、各ペプチド・GPCR 残基ペアの相互作用の有無への寄与度を数値化した (= IDL Score)。負の値(右図青)は相互作用しなくなることに寄与しており、正の値(右図赤)は相互作用することに寄与していることを表している。SP および BAM の MRGPRX1/2 特異性に寄与した残基については、各ペプチドに対して MRGPRX1/2 の両方の受容体をペアとしたときの IDL Score の差に基づいて推定した。



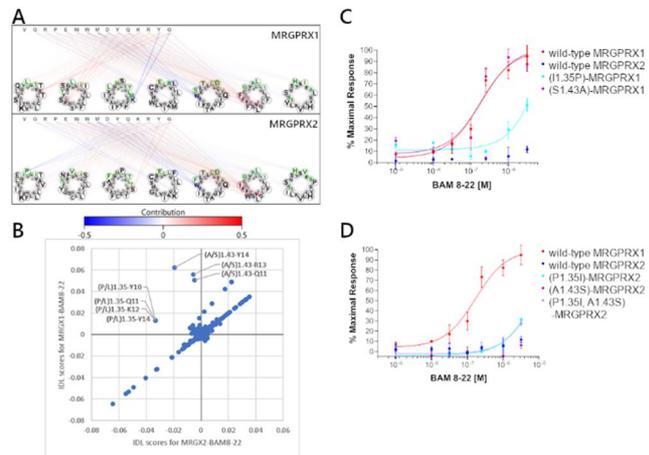
4. 研究成果

(1) SP と MRGPRX2/1 の IDL Score を計算した(右図 A, B)結果、MRGPRX2 の P1.35, F3.24, G4.61 は SP の各残基と正の IDL score を示しているが、MRGPRX1 の相同な部位のアミノ酸(L1.35, I3.24, W4.61)は SP の一部残基と負の IDL Score を示していた。このことから、MRGPRX1 に対して MRGPRX2 型になるような変異体を構築



し、SP に対する活性を検証した。その結果、三点変異体(L1.35P, I3.24F, W4.61G)-MRGPRX1、二点変異体(I3.24F, W4.61G)-MRGPRX1、の二種類の変異体で WT では見られなかった SP に対する濃度依存的応答が確認できた(上図 D)。このことから、推定された 3 残基のうち、I3.24F, W4.61G の 2 残基が SP の認識に関与していることが示された。さらに、上図 E で示すように、配列相同性を示さないが SP を認識する受容体、NK1R についても同様に相互作用因子を推定したところ、相同な部位の Y3.24, G4.61 が保存されていたことから、MRGPRX2 と NK1R は、全体の配列相同性はないものの、同じ分子認識機構を用いて Substance P を認識していることを示唆する結果も得た。

(2) 同様に BAM と MRGPRX1/2 の IDL Score を計算した(右図 A, B) 結果、MRGPRX1 の P1.35, A1.43 は BAM の各残基と正の IDL score を示していたが、MRGPRX2 の相同な部位(L1.35, S1.43)は BAM の一部残基と負の値を示していた。このことから、MRGPRX 2 に対して MRGPRX1 型になるような変異体を構築し、BAM に対する活性を検証した。その結果、(P1.35I)-MRGX2 および二点変異体(P1.35I, A1.43S)-MRGX2 は弱いながらも WT の MRGX2 では見られなかった BAM に対する活性を得た。このことから、P1.35 は MRGX1-SP の相互作用因子であると結論付けた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hayakawa Eisuke, Guzman Christine, Horiguchi Osamu, Kawano Chihiro, Shiraishi Akira, Mohri Kurato, Lin Mei-Fang, Nakamura Ryotaro, Nakamura Ryo, Kawai Erina, Komoto Shinya, Jokura Kei, Shiba Kogiku, Shigenobu Shuji, Satake Honoo, Inaba Kazuo, Watanabe Hiroshi	4. 巻 6
2. 論文標題 Mass spectrometry of short peptides reveals common features of metazoan peptidergic neurons	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Ecology & Evolution	6. 最初と最後の頁 1438 ~ 1448
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41559-022-01835-7	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4件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 白石慧
2. 発表標題 解釈可能な機械学習モデルによるGPCR分子認識機構の共通性/多様性の解明
3. 学会等名 日本動物学会第94回大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 白石慧
2. 発表標題 機械学習を用いたGPCR-ペプチド間相互作用の多様化分子機構の解明
3. 学会等名 日本動物学会第93回大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 白石慧
2. 発表標題 機械学習を用いたGPCR-ペプチド間相互作用の予測
3. 学会等名 第40回ホヤの生物学談話会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 白石慧
2. 発表標題 機械学習を用いたペプチド-受容体相互作用パターンの体系的予測と理解
3. 学会等名 第48回BMSコンファレンス(招待講演)
4. 発表年 2022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
---------	---------