

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 17 日現在

機関番号：32657

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25870764

研究課題名(和文) 膜タンパク質間相互作用ペアの網羅的予測に関する研究

研究課題名(英文) Interaction pair predictor for membrane proteins

研究代表者

根本 航(Nemoto, Wataru)

東京電機大学・理工学部・准教授

研究者番号：10455438

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：多くの膜タンパク質は機能する際に複合体としても機能する。疾患との関連が示唆される複合体形成の例が報告されている。複合体の構成要素が異なれば発揮される機能が異なる。我々は、複合体の構成要素を明らかにすべく、配列データと立体構造データを利用する膜タンパク質間相互作用ペアの予測手法開発に取り組んだ。しかし、全膜タンパク質を包括的に取り扱うことは困難だったため、30%程度の市販薬物が標的とするGタンパク質共役型受容体について、相互作用ペアを予測する手法を開発し、その精度を向上させた。また、体細胞変異による相互作用への影響について解析し、相互作用異常により疾患を引き起こす可能性のある変異候補を見出した。

研究成果の概要(英文)：Membrane proteins are important pharmaceutical targets. Many membrane proteins exert a wide variety of molecular functions by forming their specific combinations. In addition, various membrane proteins are reportedly associated with diseases. Their oligomerization is now recognized as an important event in various biological phenomena, and many researchers are investigating this subject. We have tried to develop a support vector machine (SVM)-based method to predict interacting pairs for membrane protein oligomerization, by integrating their structure and sequence information. However, it is still difficult to develop a method to predict interacting membrane protein pairs among all membrane proteins. Hence, in this project, we focused only on G protein-coupled receptors (GPCRs), and developed a high performance method. Our method could accelerate the analyses of these interactions, and contribute to the elucidation of the global structures of the GPCR networks in membranes.

研究分野：立体構造インフォマティクス

キーワード：膜タンパク質 相互作用 バイオインフォマティクス 予測 アミノ酸配列 立体構造 機械学習

1. 研究開始当初の背景

水溶性タンパク質の場合と同様に、膜タンパク質同士の相互作用には特異性があり、相互作用相手に応じ、単量体の場合とは異なる機能が発現する。疾患との関連が示唆される複合体の報告例もあり、膜タンパク質間相互作用ペアの情報の有用性が高まっている。しかし、膜タンパク質間相互作用ペアの網羅的同定は未だに困難な課題であり、その予測手法も報告されていない。

2. 研究の目的

本研究では、膜タンパク質間相互作用ペアを予測するバイオインフォマティクス手法を開発する。開発手法を用いて、ヒト膜タンパク質間相互作用ペアの網羅的予測を行う。さらに、病態組織・正常組織における遺伝子発現情報を考慮し、病態組織特異的ヒト膜タンパク質間相互作用ペア予測を行う。

3. 研究の方法

バイオインフォマティクスにおける分類問題に用いられてきたサポート・ベクトルマシンを応用した。膜タンパク質ペアを一つのオブジェクトとして扱い、相互作用ペアと非相互作用ペアとに分類する問題として取り扱った。

学習の際の正例データには、様々な実験により報告された相互作用ペアを文献情報に基づき収集し利用した。負例には相互作用しないペアのデータを文献情報に基づき収集し利用した。しかし、負例として取り扱えるペア数は少なく、これを補うため、遺伝子発現情報を利用し、調査した全組織・器官において共発現しないペアもまた、負例として取り扱った。

膜タンパク質ペアの特徴ベクトルは以下の手順で作成した。まず、ペアを構成する双方について、タンパク質のアミノ酸配列データを RefSeq データベースより取得した。それぞれの立体構造情報を得るため、Protein Data Bank (PDB) 中で最も近縁と考えられる配列の立体構造を入手し、アラインメントすることで、配列上の各残基が立体構造上どのような位置にあるかを推定した。

次に、立体構造の位置特異的な性質の違いが際立つように分割して作成された各領域にて、様々な物理化学的スコアの平均値を算出し、特徴ベクトルの要素として利用した。

4. 研究成果

当初の予定では、膜タンパク質全般に適用可能な予測手法を開発する予定であったが、遺伝子発現データを得られる組織・器官数に限りのある膜タンパク質も多かったことから、予測標的を限定して開発を進めた。研究開始時点ですでに開発を進めていた創薬標的として特に重要な GPCR に着目することで、高精度な予測手法を確立できた。

次に、開発した手法を、相互作用状態未知

のペアに適用したところ、新規に 415 の GPCR 間相互作用ペアを予測することができた。この相互作用ペアで形成されるタンパク質間相互作用ネットワークはスケールフリー性を有していた。

新規に予測されたペアのうち、代謝型グルタミン酸受容体タイプ 1 と A2b アドレナリン受容体のペアについては、さらに興味深いことが示唆された。この二つのタンパク質における体細胞変異は肺がん患者で高頻度に見出されることが報告されている。しかし、それらの変異の多くは、どのようなメカニズムで肺がんに関与するのか未解明であった。我々が代謝型グルタミン酸受容体タイプ 1 の立体構造を解析したところ、この受容体に見出される変異のうち R681H/G と R684C は、A2b アドレナリン受容体との相互作用のためのインターフェイス部分に位置していることが予測された。この二箇所における変異が、両受容体間の相互作用異常を引き起こし、最終的に肺がんを誘発する可能性が示唆された。

近年、体細胞変異の中でも、特にタンパク質をコードする領域に高頻度に確認される Hotspot mutation は、疾患組織において頻出することから、幅広い研究の対象とされている。現在我々は、がんに関連する体細胞変異のデータベースである COSMIC において提供されている変異のうち、タンパク質間相互作用プロファイルの変化を通して疾患を引き起こすものの予測に取り組んだ。

上記の開発に加え、膜タンパク質同士の相互作用により形成されるネットワークについても解析を行った。膜タンパク質間相互作用ネットワークのクラスタ係数は、水溶性タンパク質間相互作用ネットワークのクラスタ係数よりも大きい傾向が示唆された。この生物学的な理由について考察を試みたが、現時点で明確な答えは得られていない。

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 5 件)

Wataru Nemoto, Yoshihiro Yamanishi, Vachirane Limviphuvadh, Akira Saito, Hiroyuki Toh, GGIP: structure and sequence-based GPCR-GPCR interaction pair predictor, PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics, 査読有、(in press), DOI: 10.1002/prot.25071
根本 航, 膜タンパク質間相互作用ネットワーク制御の試み、バイオメディア、査読無、Vol.93, No.2, 2014, pp.97
根本 航, 齊藤 哲, GPCR オリゴマーの機能解析とオリゴマー化の制御 ~ バイオインフォマティクスを用いたアプローチ ~、ファルマシア、査読無、Vol.50, No.9, 2014, pp.896-898

Balasubramanian Nagarathnam, Snehal D. Karpe, Krishnan Harini, Kannan Sankar, Mohammed Iftekhar, Durairaj Rajesh, Sadasivam Giji, Govindaraju Archunan, Veluchamy Balakrishnan, M. Michael Gromiha, Wataru Nemoto, Kazuhiko Fukui and Ramanathan Sowdhamini, DOR - a Database of Olfactory Receptors - Integrated Repository for Sequence and Secondary Structural Information of Olfactory Receptors in Selected Eukaryotic Genomes, Bioinformatics and Biology Insights, 査読有, 8巻, 2014、147-158 DOI: 10.4137/BBI.S14858
Nemoto W, Saito A, Oikawa H. Recent advances in functional region prediction by using structural and evolutionary information - Remaining problems and future extensions. Comput Struct Biotechnol J, 査読有, 2013, 8巻 :e201308007.doi:10.5936/csbj.201308007.

[学会発表](計 20 件)

Wataru Nemoto, Yoshihiro Yamanishi, Vachirane Limviphuvadh, Hiroyuki Toh, GGIP: GPCR-GPCR Interaction Pair Predictor, 第十五回日本蛋白質科学会, 2016年6月8日, 「博多コンベンションセンター(福岡県福岡市)」

Shoichiro Kato, Hiroyuki Toh, Wataru Nemoto, 機能部位予測に最適な相同配列を選択する指標, 第十五回日本蛋白質科学会, 2016年6月7日, 「博多コンベンションセンター(福岡県福岡市)」

雨宮雄一、根本航, GPCR オリゴマー特異的なリガンドに関する研究, 第十五回日本蛋白質科学会, 2016年6月7日, 「博多コンベンションセンター(福岡県福岡市)」

Wataru Nemoto, Yoshihiro Yamanishi, Vachirane Limviphuvadh, Hiroyuki Toh, GGIP: GPCR-GPCR Interaction Pair Predictor, JCUP VII, 2016年5月20日, 「Asahi Seimei Building(東京都中央区)」

及川勇人、根本航, 膜タンパク質間相互作用ネットワーク解析, 第五回日本生物物理学会関東支部会, 2016年3月16日, 「群馬大学(群馬県桐生市)」

齊藤哲、藤博幸、根本航, GPCR オリゴマー化のためのインターフェイス予測サービス, 第五回日本生物物理学会関東支部会, 2016年3月16日, 「群馬大学(群馬県桐生市)」

Wataru Nemoto, Yoshihiro Yamanishi, Vachirane Limviphuvadh, Akira Saitoh, Shunsuke Fujishiro, Yuichi Amemiya, Hiroyuki Toh, Bioinformatics approaches in the

study of GPCR oligomers, The 53th Biophysical Society of Japan, 2015年9月14日, 「金沢大学(金沢市)」
藤代 峻輔、齊藤 哲、雨宮 雄一、Limviphuvadh Vachirane、山西 芳裕、藤 博幸、根本航, 疾患に関連する GPCR 間相互作用ペアの解析, 第 15 回日本蛋白質科学会, 2015年6月24日, 「あわぎんホール(徳島県徳島市)」

Akira Saito, Wataru Nemoto, Hiroyuki Toh, Improvements of a method to predict interfaces for GPCR oligomerization, CBI 学会 2014 年大会, 2014年10月28日, 「タワーホール船堀(東京都江戸川区)」

雨宮雄一、根本航, GPCR ヘテロダイマーに得意的に結合する化合物の設計に関する研究, 第 87 回日本生化学会大会, 2014年10月16日, 「京都国際会議場(京都府京都市)」

根本航, 山西 芳裕、Limviphuvach Vachirane、藤博幸, GGIP: structure and sequence-based GPCR-GPCR interaction pair predictor, 第 87 回日本生化学会大会, 2014年10月16日, 「京都国際会議場(京都府京都市)」
根本航, 山西 芳裕、Limviphuvach Vachirane、藤博幸, GGIP: GPCR 間相互作用ペア予測手法, 第 87 回日本生化学会大会, 2014年10月16日, 「京都国際会議場(京都府京都市)」

Wataru Nemoto, Yoshihiro Yamanishi, Hayato Oikawa, Akira Saito, Hiroyuki Toh, GGIP : GPCR-GPCR Interaction Pair Predictor The 52th Biophysical Society of Japan, 2014年9月26日, 「北海道コンベンションセンター(北海道札幌市)」

Akira Saito, Hiroyuki Toh, Wataru Nemoto, Improvements of a method to predict interfaces for GPCR oligomerization, The 18th Congress of International Union of Pure and Applied Biophysics (IUPAB), 2014年8月6日, 「Brisbane(Australia)」

Wataru Nemoto, Yoshihiro Yamanishi, Vachirane Limviphuvadh, Hiroyuki Toh, GGIP : GPCR-GPCR Interaction Pair Predictor, The 18th Congress of International Union of Pure and Applied Biophysics (IUPAB), 2014年8月6日, 「Brisbane(Australia)」

根本航, G タンパク質共役型受容体間相互作用ペア予測, GPCR 研究会, 2014年5月10日, 「日本科学未来館(東京都・江東区)」

齊藤哲、藤博幸、根本航, GPCR オリゴマー化のためのインターフェイス予測サービスの拡張, GPCR 研究会, 2014年5月9日, 「日本科学未来館(東京都・

江東区)」

Wataru Nemoto, Yoshihiro Yamanishi,
Akira Saito, Hayato Oikawa, Hiroyuki
Toh, 20130927 GGIP :
GPCR-GPCR Interaction Pair
prediction, 2nd IITM - Tokyo Tech
Joint Symposium on "Techniques and
Applications of Bioinformatics",
IITM, 2013 年 9 月 27 日 ,
「Chennai(India)」

Wataru Nemoto, Hiroyuki Toh, FREPS :
Functional REgion Prediction by using
Spatial statistics, 2nd IITM - Tokyo
Tech Joint Symposium on "Techniques
and Applications of Bioinformatics",
IITM, 2013 年 9 月 27 日 ,
「Chennai(India)」

Wataru Nemoto, Yoshihiro Yamanishi,
Vachiranee Limvipuvadh, Hiroyuki
Toh, GGIP : GPCR-GPCR Pair prediction,
International Conference on
Structural Genomics 2013 - Structural
Life Science - (ICSG2013-SLS), 2013
年 7 月 29 日, 「札幌コンベンションセ
ンター(北海道札幌市)」

6 . 研究組織

(1)研究代表者

根本 航 (NEMOTO, Wataru)
東京電機大学・理工学部・准教授
研究者番号 : 10455438