

## 平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 補助事業名：創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業）
2. 補助事業課題名：構造バイオインフォマティクス・リテラシーの浸化と深化
3. 研究開発代表者：名古屋大学 教授 太田元規
4. 研究開発の成果

1) 構造バイオインフォマティクス技術を用いた支援  
・継続中の共同研究の支援：a) アクチンキャッピングタンパク質に関する計算科学的研究，b) FATP3 の SNP に関するホモロジーモデリング，c) シャペロンリガンド立体構造の網羅的部分構造比較，d) アルカン合成酵素の立体構造予測，について支援研究を実施した． a) では，これまでにアクチンキャッピングタンパク質（CP），CP とその阻害剤である CARMIL 複合体，CP とその阻害剤である V-1 複合体の分子動力学軌道の解析を実施し，CARMIL との複合体にのみ見られる V-1 結合部位近くのループ運動（図 1）を発見した．平成 27 年度はこのループ運動を詳細に解析し，CARMIL 結合で運動モードが変化することを突き止めた．これらの結果をまとめ，論文として発表した． b) ではこれまでにモデリング結果についての考察を支援先（理研）に報告し，共同で論文を作成した．平成 27 年度は論文審査過程で要求があった SNP について追加モデリングを実施し，論文を出版した． c) では GroEL リガンドの部分構造比較の結果をジャックナイフ法で評価するために，線形計画法のアルゴリズムが適用可能なように問題設定を行い，評価を実施した． d) ではホモロジーモデルが作成可能なドメインを考慮し，ホモロジーモデリングが不可能なドメインについてフラグメントアセンブリ法でモデリングを行った．平成 27 年度はモデル構造と，それが相互作用するタンパク質構造とのドッキング構造を作成し，機能部位について考察した．支援先ではドッキング構造に基づく変異体実験を実施予定である．

・支援課題の掘り起こし：日本蛋白質科学会，日本生物物理学会などを利用して支援課題の掘り起こし活動を行った．カイネースリン酸化データの解析を検討し，支援課題として認定された．

2) 構造バイオインフォマティクス関連既存ツールの整備

・構造比較ツール用のサーバーの構築・公開と拡張：タンパク質立体構造比較プログラム，MICAN の解析サーバーを作成し公開した．現在は二次構造要素の空間配置のみを考慮するノンシーケンシャルモードが稼働している．二次構造の配列にそった並びを考慮したシーケンシャルモードについては，高度化の一環として論文を作成しているので，その出版にあわせて公開する予定である．

・構造変化記述ツール用のサーバーの構築・公開と拡張：構造変化記述法，MotionTree のサーバーを公開した．既にサーバーのインターフェースは開発してあったが，平成 27 年度は表示に利用する立体構造データを整備した．

3) 動的複合体データベースの構築

・低次複合体データの整備：ホモダイマーの構造変化について MotionTree を用いた網羅的な解析を実施し，運動の分類を行った．多くの運動はプロトマー内の部分構造変化であったが，プロトマーをまたぐ領域が剛体として運動するオーバーモーション，プロトマーの相互作用面を利用した運動であるイン

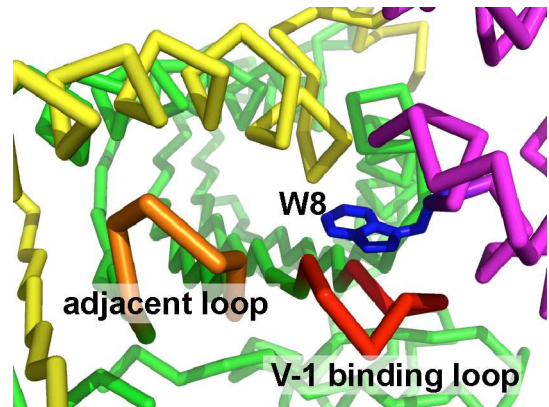


図 1：CARMIL 結合で特異的な構造変化を示すループ（赤と橙）．V-1 中で結合を担う Trp は青で示した．文献 1 の図 4a を改変．

ターフェースモーションも相当数見られた。モーションの統計をとるためのダイマーデータを整備し、最終的にファミリー単位にまとめた。

・高次複合体データの整備：トライマー以上のオリゴマについてもデータ整備を進めた。トライマー以上になると複合体のでき方にダイヘドラル、サイクリックという2つのモードを考慮することができる。これらのモードとオーバーモーションやインターフェースモーションの関連を調べるため、複合体毎にモードを割り付けた。

・解析：オーバーモーション、インターフェースモーションはオリゴマ特有の運動なので、これらが発生するプロトマーの構造上の特徴を解析した。ホモダイマーを対象にインターフェースの性質を調べた。調べた特徴は、インターフェースの大きさ、水素結合数、平面度、二次構造の割合である。その結果オーバーモーション、インターフェースモーションをおこす相互作用面を特徴付けることができた。また、ダイマーデータを情報拠点が運用するクラウド (VaPros) に提供するため XML のタグを検討し、テストデータを送付した。

#### 4) 立体構造予測技術の高度化

・新規予測法の開発と検証：二次構造の配列上の並び方を考慮しないで鋳型構造を用意する方法では、二次構造を空間上に配置した上でそのつなぎ方 (ループ部位) を網羅的に発生させ、新しい鋳型を作成する。この方法では図2上図で示すような新規構造の予測も可能である。しかしこの方法を素直に行うとタンパク質ではほとんどあり得ない構造も発生し、場合の数も爆発的に増えてしまう。タンパク質らしい構造をあらかじめ同定し評価すべき構造数を減らすため、発生した構造を間引く方法を開発した。二次構造数が15以下の場合に正解構造を含む鋳型が用意できることを確認した。MICANのシーケンシャルモードが精度良いアラインメントを出力することをベンチマークで確認し (図2下図)、精度を二次構造の含有量別に調べた結果、 $\beta$ クラスのアラインメントで特に威力を発揮することが判明した。

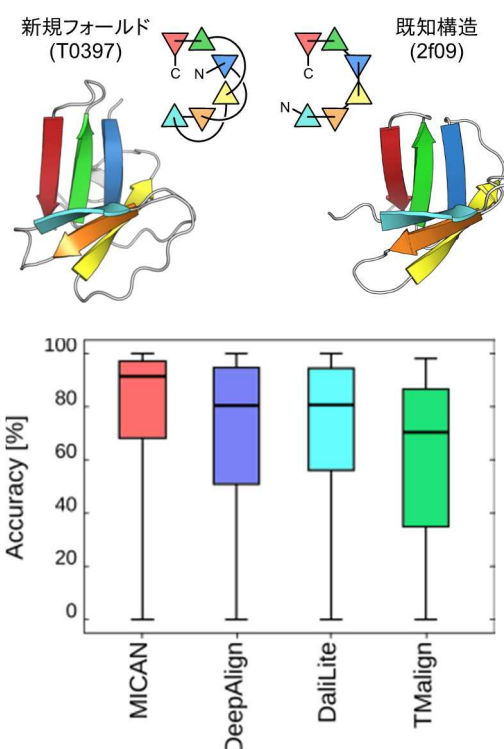


図2：MICANによるノンシーケンシャル構造アラインメントの例 (上図)。シーケンシャルアラインメントの精度 (下図)

#### 成果論文

1. R. Koike, et al., Comprehensive analysis of motions in molecular dynamics trajectories of the actin capping protein and its inhibitor complexes, *Proteins*, in the press
2. T. Okuno, et al. VS-APPLE: A Virtual Screening Algorithm Using Promiscuous Protein-Ligand Complexes, *J. Chem. Inf. Model.* 2015, 55, 1108-19
3. C. Kobayashi, et al., Domain-motion enhanced (DoME) model for efficient conformational sampling of multi-domain proteins, *J. Phys. Chem. B*, 2015, 119, 14584-14593
4. M. Maekawa, et al., Investigation of the fatty acid transporter-encoding genes SLC27A3 and SLC27A4 in autism, *Sci. Rep.* 2015, 5, 16239
5. N. Goda, et al., A method for systematic assessment of intrinsically disordered protein regions by NMR, *Int. J. Mol. Sci.* 2015, 16, 15743-15760