

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金  
(創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業) 補助事業成果報告書

## I. 基本情報

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）  
Platform Project for Supporting Drug Discovery and Life Science Research  
(Platform for Drug discovery, Informatics, and Structural life science)

補助事業課題名：（日本語）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  
（英語）Enlightening and deepening of structural bioinformatic literacy

補助事業担当者 （日本語）名古屋大学大学院情報学研究科 教授 太田 元規  
所属 役職 氏名：（英語）Motonori Ota, Professor, Graduate School of Informatics,  
Nagoya University

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

## II. 成果の概要（総括研究報告）

支援研究として、前田雄一郎特任教授（名古屋大学 構造生物学研究センター）のグループとともに、アクチン結合タンパク質を CARMIL がアロステリックに阻害するメカニズムについて研究した。アクチン結合タンパク質を含む 3 種類の複合体について分子動力学計算を行い、結果を独自の構造変化解析ツール：Motion Tree で調査し、アクチン結合タンパク質とアクチンフィラメントの相互作用面にあるループの運動が、CARMIL 結合により変化することを見出した。

吉川武男シニア・チームリーダー（理化学研究所 脳科学総合研究センター）のグループとともに、脂質輸送タンパク質の SNP の構造機能相関について研究した。統合失調症と相関のある SNP についてホモロジーモデリングを実施し、変異の位置を調べたところ、活性部位、リガンド結合部位からは遠く表面に近い位置にあり、他のタンパク質との相互作用への影響が示唆された。

田口英樹教授（東京工業大学 科学技術創成研究院）のグループとともに、シャペロニン GroE のリガンドとなるタンパク質の特徴を研究した。独自の構造比較ツール：MICAN を利用して網羅的な部分構造比較を行い、全体構造が特定の部分構造を含むか含まないかで GroE リガンドを高精度で判定できることを示した。

新井宗仁准教授（東京大学 大学院総合文化研究科）のグループとともに、アルカン合成酵素であるアシル（アシル輸送蛋白質）還元酵素（AAR）の立体構造予測を実施した。構造予測が困難な部位を含むAAR 140-340残基についてホモロジーモデリングと独自のアブイニシオ立体構造予測を併用してモデル構築を行った。さらにAARとアシル輸送タンパク質との複合体構造を予測し、機能改変のための変異体を提案した。

貝淵弘三教授（名古屋大学 大学院医学系研究科）のグループとともに、実験で決定されたキナーゼ、リガンド、リン酸化部位のデータを解析し、リン酸化部位は天然変性領域でより多く見られること、長さにより特徴づけられることを統計的に検証した。

石野良純教授（九州大学 大学院農学研究院）のグループとともに、FANCMの天然変性領域について独自予測法：DICHOTで調査を行い、他のタンパク質との相互作用部位についてモチーフを検討した。

高度化研究として、複合体構造変化の大規模解析を独自の複合体比較法：SCPCとMotion Treeを利用して実施した。ホモダイマーについて複合体特有のインターフェース運動、オーバーサブユニット運動を同定し、それらが構造変化の4割を占めることを明らかにした。これらの運動と相互作用面の性質には相関があることを示した。天然変性タンパク質データベース：IDEALのアップデートを実施し、コンテンツを情報拠点が運営するデータクラウドに提供した。二次構造要素のアミノ酸配列上の並びを考慮しない構造比較法：MICANを独自開発し、様々な応用研究を展開した。全PDBドメインを構造比較したところ、約8割のタンパク質のフォールドが、全く異なるフォールドと二次構造空間配置を共有していることを発見した。よって二次構造をつなぎ替えることで新規鋳型を作成することが可能となる。この発想に基づき計算機内で新規鋳型を発生させ構造予測を行う方法の開発を行った。発生させた多くの鋳型はループ交差などのタンパク質らしくない空間配置を含む。タンパク質らしい鋳型を選別するために、二次構造空間配置のルールを探索し、新規ルールをいくつか見出した。また、MICANで検索した構造とリガンドを全て重ね合わせ、それに基づいてリガンドスクリーニングを実施する新規手法：VS-APPLEを開発し、リガンド予測コンテストで優秀賞を獲得した。Motion Tree, MICANについてはサーバを公開し、解析サービスを開始した。

As a collaboration research, we investigated allosteric inhibition of CARMIL to the actin-capping protein (CP) that binds to actin filament to regulate its elongation. We conducted molecular dynamics simulation for the 3 complexes including CP, and analyzed trajectories using our original method, Motion Tree. We revealed that the motion of actin-binding loops of CP was modified by the binding of CARMIL, and suggested it would be related with the inhibition mechanism (with Maeda laboratory (Nagoya U.)).

We investigated structure-function relationship of SNPs of fatty-acid transport proteins (FATP3 and 4) by the homology modeling. The SNPs investigated show significant correlation with autism. The model structures indicated the positions of SNP sites were far from the active sites and ligand binding sites, and situated on the structural surface. It implies that these SNPs may modify the interaction with the other proteins (with Yoshikawa laboratory (RIKEN)).

We developed a method to discriminate GroE ligands from E. coli proteins. By the extensive substructure comparison using our original method, MICAN, we explored common substructures that were included in GroE ligand structures. The Matthews correlation coefficient of 0.65 revealed The

Matthews correlation coefficient of 0.65 demonstrates the discrimination power of our method (with Taguchi laboratory (Tokyo Tech)).

We constructed structural model of acyl (acyl carrier protein) reductase (AAR) that is the essential protein to produce alkanes. No template structures for the C-terminal half of AAR were found in the PDB, so we applied the fragment assembly method to this region. In addition, we constructed the docking model of AAR and acyl carrier protein, and suggested a couple of mutations to increase products based on the model (with Arai laboratory (Tokyo U.)).

We analyzed the sets of kinases, ligands, and phosphorylation sites, and confirmed that the phosphorylation sites were tend to be located in the intrinsically disordered regions (IDRs), and found the length of IDRs may be related to the phosphorylation (with Kaibuchi laboratory (Nagoya U.)).

We surveyed IDR of FANCM using DICHOT and analyzed binding motifs to other proteins based on the multiple sequence alignments (with Ishino laboratory (Kyushu U.)).

As the enhancement of our original methodologies, we examined the structural changes of homodimers using SCPC and Motion Tree. We revealed complex-specific motions: interface motion and over-subunits motion were common in the structural changes of homodimers (~40%), and these motions are correlated with interface properties. We updated IDEAL (a database of intrinsically disordered proteins), and provide it to the VaPros database managed by the information core. We developed a non-sequential protein structure comparison method, MICAN, and applied it to various researches. First we compared all domains in the PDB by MICAN, and discovered that for more than 80% folds, at least a similar spatial arrangement of secondary structure elements (SSEs) can be found in those of other folds. This implies that we can generate the structural template of new fold by changing the connection of SSEs of known folds. We tried to create such virtual templates, but recognized that most of them included the irregular SSE arrangements that were rarely observed in the native proteins (e. g., loop-crossing). To create the templates of native-like proteins, we investigated the rules of natural protein structures, and discovered a couple of them. Furthermore, we developed a new ligand screening method, VS-APPLE, in which all the structural templates and ligand molecules retrieved by MICAN in the non-sequential mode were superimposed and used to evaluate ligand binding. This method was awarded in the ligand screening contests. Also, we constructed Motion Tree and MINCA servers in public.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 14 件)

1. Minami S, Sawada K, Chikenji G MICAN: a protein structure alignment algorithm that can handle Multiple-chains, inverse alignments, Ca only models, Alternative alignments, and Non-sequential alignments. BMC Bioinformatics, 2013, 14, 24.
2. Kanematsu Y, Koike R, Amemiya T, Ota M Substrate-shielding and hydrolytic reaction in hydrolases. Proteins, 2013, 81, 926-932.

3. Minami S, Sawada K, Chikenji G How a Spatial Arrangement of Secondary Structure Elements Is Dispersed in the Universe of Protein Folds. PLoS ONE, 2014, 9(9), e107959.
4. Balan S., Iwayama Y., Maekawa M., Toyota T., Ohnishi T., Toyoshima M., Shimamoto C., Esaki K., Yamada K., Iwata Y., Suzuki K., Ide M., Ota M., Fukuchi S., Tsujii M., Mori N., Shinkai Y., and Yoshikawa T. Exon resequencing of H3K9 methyltransferase complex genes, EHMT1, EHTM2 and WIZ in Japanese autism subjects. Mol. Autism, 2014, 5, 49.
5. Goda, N., Matsuo, N., Tenno, T., Ishino, S., Ishino, Y., Fukuchi, S., Ota, M., and Hiroaki, H. An optimized Npro-based method for the expression and purification of intrinsically disordered proteins for an NMR study. Intrinsicly Disordered Protein. 2015, 3(1), e1011004.
6. Okuno T, Kato K, Terada TP, Sasai M, Chikenji G VS-APPLE: A Virtual Screening Algorithm Using Promiscuous Protein-Ligand Complexes. J. Chem. Inf. Model, 2015, 55(6), 1108-1019.
7. Maekawa M, Iwayama Y, Ohnishi T, Toyoshima M, Shimamoto C, Hisano Y, Toyota T, Balan S, Matsuzaki H, Iwata Y, Takagai S, Yamada K, Ota M, Fukuchi S, Okada Y, Akamatsu W, Tsujii M, Kojima N, Owada Y, Okano H, Mori N, Yoshikawa T. Investigation of the fatty acid transporter-encoding genes SLC27A3 and SLC27A4 in autism. Sci. Rep. 2015, 5, 16239.
8. Goda N, Shimizu K, Kuwahara Y, Noguchi T, Ikegami T, Ota M, Hiroaki H, A method for systematic assessment of intrinsically disordered protein regions by NMR, *Int. J. Mol. Sci.* **16** (2015) 15743-15760
9. Kobayashi C, Matsunaga Y, Koike R, Ota M, Sugita Y. Domain Motion Enhanced (DoME) Model for Efficient Conformational Sampling of Multidomain Proteins. J Phys Chem B. 2015, 119, 14584-93.
10. Kobayashi C, Koike R, Ota M, Sugita Y. Hierarchical domain-motion analysis of conformational changes in Sarcoplasmic Reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase. Proteins. 2015, 83, 746-756.
11. Koike R, Takeda S, Maéda Y, Ota M. Comprehensive analysis of motions in molecular dynamics trajectories of the actin capping protein and its inhibitor complexes. Proteins, 2016, 84, 948-956.
12. Ota M, Gonja H, Koike R, Fukuchi S Multiple-Localization and Hub Proteins. PLoS ONE, 2016, 11, e0156455.
13. Shaji D, Amemiya T, Koike R, Ota M Interface property responsible for effective interactions of protean segments: Intrinsically disordered regions that undergo disorder-to-order transitions upon binding. Biochem. Biophys. Res. Commun., 2016, 478, 123-127.
14. Okuno T, Kato K, Minami S, Terada TP, Sasai M, Chikenji G Importance of consensus region of multiple-ligand templates in a virtual screening method. Biophys. Physicobiol., 2016, 13, 149-156.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 分子動力学法による capping protein (CP) の動的構造の解析, ポスター, 小池亮太郎, 武田修一, 前田雄一郎, 太田元規, 第 12 回日本蛋白質科学会, 2012/6/20, 国内.
2. Structural fluctuations of capping proteins analyzed by molecular dynamics simulations. 口頭, Koike R, Takeda S, Maéda Y, Ota M., 第 50 回日本生物物理学会, 2012/9/22, 国内.
3. CARMIL 蛋白質の天然変性領域によるアロステリックなキャップ蛋白質の機能制御, 口頭, 小池亮太郎, 武田修一, 前田雄一郎, 太田元規, 第 13 回日本蛋白質科学会, 2013/6/12, 国内.
4. MotionTree 法によるホモダイマータンパク質の構造変化の解析, ポスター, 堀井達哉, 太田元規, 第 13 回日本蛋白質科学会, 2013/6/12, 国内.
5. Structural analysis of protean segments (ProSs) in intrinsically disordered proteins (IDPs), ポスター, Shaji D, Amemiya T, Fukuchi S, Ota M., 第 13 回日本蛋白質科学会, 2013/6/12, 国内.
6. Motion Tree 法を用いた SERCA のリガンド解離における構造変化の解析, ポスター, 小林千草, 小池亮太郎, 太田元規, 杉田有治, 第 13 回日本蛋白質科学会, 2013/6/12, 国内.
7. Motion Tree を利用した capping protein の動的構造解析, ポスター, Koike R, Takeda S, Maéda Y, Ota M., 第 51 回日本生物物理学会, 2013/10/28, 国内.
8. 天然変性タンパク質データベース IDEAL の機能拡張 —PPI ネットワーク, ポスター, Amemiya T, Sakamoto S, Nobe Y, Hosoda K, Kado Y, Koike R, Hiroak H, Ota M, Fukuchi S., 第 51 回日本生物物理学会, 2013/10/28, 国内.
9. 天然変性タンパク質の結合と共役した折りたたみ部位の相互作用解析, ポスター, Shaji D, Amemiya T, Fukuchi S, Ota M., 第 51 回日本生物物理学会, 2013/10/28, 国内.
10. Rho family の可動領域におけるタンパク質間相互作用の解析, ポスター, 伴知晃, 太田元規, 第 36 回日本分子生物学会, 2013/12/3, 国内.
11. Characterization of Protean segments (ProSs) in Intrinsically Disordered Proteins (IDPs) based on their binding efficiency, ポスター, Shaji D, Amemiya T, Fukuchi S, Ota M., 第 14 回日本蛋白質科学会, 2014/6/27, 国内.
12. タンパク質のフォールドは他のフォールドとどのように二次構造の空間配置を共有しているのだろうか?, ポスター, 南慎太郎, 千見寺浄慈, 第 14 回日本蛋白質科学会, 2014/6/27, 国内
13. 新規骨格を有する薬物候補化合物の発見に向けたリガンド情報に基づく新たなヴァーチャルスクリーニング手法の開発, ポスター, 加藤鉦也, 千見寺浄慈, 第 15 回日本蛋白質科学会, 2015/6/26, 国内
14. 三角ポリゴンの衝突判定を用いたタンパク質のループ交差を検知するアルゴリズムの開発, ポスター, 向辰朗, 千見寺浄慈, 第 15 回日本蛋白質科学会, 2015/6/26, 国内
15. ドメイン運動の階層的な解析により描かれる SERCA の反応による構造変化, ポスター, 小林千草, 小池亮太郎, 太田元規, 杉田有治, 第 52 回日本生物物理学会, 2014/9/26, 国内.
16. データベース IDEAL の新機能と機能性天然変性領域の配列・構造比較, ポスター, 福地佐斗志, 雨宮崇之, 坂本盛宇, 野邊由紀子, 嘉戸裕美子, 細田和男, 小池亮太郎, 廣明秀一, 太田元規, 第 52 回日本生物物理学会, 2014/9/26, 国内.

17. 局所パッキングパターンによる GroEL 基質蛋白質の構造的特徴の記述, ポスター, 南慎太郎、丹羽達也、田口英樹、太田元規, 第 52 回日本生物物理学会, 2014/9/26, 国内.
18. Non-sequential structural similarity in the protein world, 口頭, Minami S, Ota M, Chikenji G, 第 52 回日本生物物理学会, 2014/9/26, 国内
19. An algorithm for identifying loop crossing in protein structures, ポスター, Mukai T, Chikenji G, 第 52 回日本生物物理学会, 2014/9/26, 国内
20. Homologous protein pairs that share the same core packing but have different topology, ポスター, Kanemitsu T, Minami S, Chikenji G, 第 52 回日本生物物理学会, 2014/9/26, 国内
21. Template based modeling utilizing an order-made template library, ポスター, Takagi K, Mukai T, Chikenji G, 第 52 回日本生物物理学会, 2014/9/26, 国内
22. De Novo protein structure modeling by rewiring old folds, ポスター, Nishiyama S, Mukai T, Chikenji G, 第 52 回日本生物物理学会, 2014/9/26, 国内
23. A Ligand Based Virtual Screening method that takes into account of protein-ligand interactions, ポスター, Kato K, Chikenji G, 第 52 回日本生物物理学会, 2014/9/26, 国内
24. 二次構造の空間的配置パターンに注目して天然タンパク質構造の持つ普遍的特徴を探る, 口頭, 南慎太郎, 太田元規, 千見寺浄慈, 第 15 回日本蛋白質科学会, 2015/6/26, 国内.
25. VS-APPLE: a Virtual Screening Algorithm using Promiscuous Protein-Ligand complexes, ポスター, 加藤 鉦也, 千見寺浄慈, 第 15 回日本蛋白質科学会, 2015/6/26, 国内.
26. 動的構造に着目した CARMIL 蛋白質によるキャップ蛋白質の機能阻害メカニズムの解明, ポスター, 小池亮太郎, 武田修一, 前田雄一郎, 太田元規, 第 15 回日本蛋白質科学会, 2015/6/25, 国内.
27. Database analysis of structural changes in protein complexes, ポスター, Koike R, Ota M, 第 53 回日本生物物理学会, 2015/9/13, 国内.
28. How to estimate topological stability of protein structures, ポスター, Minami S, Ota M, Chikenji G, 第 53 回日本生物物理学会, 2015/9/15, 国内.
29. Structural and functional characterization of structural changes in homodimeric proteins, 口頭, Amemiya T, Horii T, Koike R, Ota M, 第 53 回日本生物物理学会, 2015/9/14, 国内.
30. Where the hub proteins are, 口頭, Ota M, Gonja H, Koike R, Fukuchi S, 第 53 回日本生物物理学会, 2015/9/14, 国内
31. Development of a De Novo protein structure prediction: generating new fold structures by permutating and reversing SSEs of known folds, ポスター, Nishiyama S, Takagi K, Chikenji G, ポスター, 第 53 回日本生物物理学会, 2015/9/14, 国内.
32. A novel measure for evaluating the satisfaction of the hydrophobicity for protein structure prediction, ポスター, Masuyama Y, Takagi K, Chikenji G, ポスター, 第 53 回日本生物物理学会, 2015/9/14, 国内.
33. Template based protein modeling using a target dependent template library, ポスター, Takagi K, Masuyama Y, Chikenji G, ポスター, 第 53 回日本生物物理学会, 2015/9/14, 国内.
34. 天然変性ハブとは何か?, 口頭, 太田元規, 第 54 回横浜 NMR 研究会, 2016/1/8, 国内.

35. ホモ二量体における構造変化の網羅的解析から見えた蛋白質複合体に特有な運動, ポスター, 小池亮太郎, 雨宮崇之, 堀井達哉, 太田元規, 第 16 回日本蛋白質科学会, 2016/6/7, 国内.
36. タンパク質立体構造におけるレア構造, ポスター, 西山俊介, 南慎太郎, 千見寺浄慈, 第 16 回日本蛋白質科学会, 2016/6/7, 国内.
37. Multiple-localization, hub proteins and intrinsic disorder, ポスター, Ota M, Gonja H, Koike R, Fukuchi S, Intrinsically Disordered Proteins; Gordon Research Conference, 2016/6/27, 国外.
38. タンパク質構造を利用したバーチャルスクリーニングとその周辺, 口頭, 千見寺浄慈, 第 5 回生命医薬情報学連合大会, 2016/9/21, 国内
39. シャペロン GroEL が認識する構造モチーフ, 口頭, 太田元規, 南慎太郎, 丹羽達也, 田口英樹, 第 89 回日本生化学会, 2016/9/25, 国内.
40. Interface property of protean segments: intrinsically disordered regions that undergo disorder-to-order transitions upon binding, ポスター, Shaji D, Amemiya T, Koike R, Ota M, 第 54 回日本生物物理学会, 2016/11/25, 国内.
41. Loop connectivity change drives protein fold divergence, ポスター, Minami S, Chikenji G, Ota M,
42. New rules of protein structures, ポスター, Nishiyama S, Minami S, Chikenji G, 第 54 回日本生物物理学会, 2016/11/25, 国内
43. A new measure for hydrophobicity: Contact number around an imaginary atom, ポスター, Masuyama Y, Chikenji G, 第 54 回日本生物物理学会, 2016/11/25, 国内
44. A new threading method based on the physical characteristics of sequence-structure compatibility, ポスター, Tomoda K, Masuyama Y, Chikenji G, 第 54 回日本生物物理学会, 2016/11/25, 国内
45. Analysis of protein complexes structures towards rational design of inhibitors of Protein-protein interactions, ポスター, Kobayashi D, Chikenji G, 第 54 回日本生物物理学会, 2016/11/25, 国内

### (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 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, 太田元規, 名古屋大学・長浜バイオ大学合同開催\_創薬等支援技術基盤プラットフォームテクニカルセミナー2014, 2014/6/24, 国内.
2. インシリコスクリーニング特論, 千見寺浄慈, HPCI 人材養成プログラム, 2014/8/29, 国内.
3. 予測する創薬プラットフォーム: 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, 太田元規, 東海地区創薬支援研究交流 2015, 2015/6/13, 国内. 化合物-タンパク質複合体構造情報を用いたインシリコスクリーニング法の開発,
4. 千見寺浄慈, 東海地区創薬支援研究交流会 2015, 2015/6/13, 国内.
5. 配列順序をあえて無視したタンパク質立体構造アラインメントによるタンパク質フォールド空間の解析, 千見寺浄慈, HPCI セミナー, 2015/11/27, 国内

6. 移動するハブタンパク質, 太田元規, AMED-創薬等支援技術基盤プラットフォーム拠点間技術交流会, 2016/2/22 国内

(4) 特許出願

PCT/JP2015/050131