

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
（ゲノムスケール構造・変性領域アノテーションを用いた支援と高度化）
（英語）Enlightening and deepening of structural bioinformatic literacy
(Research support and enhancement through protein structure annotations.)

補助事業担当者（日本語）前橋工科大学工学部 准教授 福地佐斗志
所属 役職 氏名：（英語）Satoshi Fukuchi, Associate Professor, Faculty of Technology,
Maebashi Institute of Technology

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）

支援課題として以下の事業を行った。理化学研究所・吉川武男教授の研究グループに対し、自閉症・統合失調症に関連する SNP の立体構造上の役割を類推するために、FATP3 のホモロジーモデリングを行った。SNP サイトは活性部位や基質結合部位からは遠く表面に近いと、他のタンパク質との相互作用部位ではないかと示唆された。本成果は *Scientific Report* 誌に発表した（課題番号 1060）。立命館大学・三原久明教授グループに対し、新規創薬ターゲットとなる中性スフィンゴ糖合成に関与する糖転移酵素について調査の支援を行った。解析の結果、*Rhizopus oryzae* のグループのみが保有する糖転移酵素 PFAM ファミリーを同定し、ターゲット候補として情報を提供した（課題番号 1188）。慶応大学（現東京医科歯科大学）白壁恭子准教授に対し、シェディングを受けるタンパク質の切断認識配列に関する解析を支援した。配列プロフィールを用いた解析の結果、シェディング標的タンパク質の認識配列の一部が明らかになった（課題番号 2021）。京都府立大学・牛田一教授のグルー

ブに、ゴリラの腸由来ビフィズス菌プロテオームの機能アノテーション・及び比較ゲノムの支援を行った。この結果、糖関連タンパク質はヒト由来菌で多様化していることが示され、ヒトの腸内環境、すなわち食生活の変化がビフィズス菌の多様化に関与していることが示唆された。名古屋大学・天野睦月准教授に対し、キナーゼが認識するリン酸化サイト配列の特徴抽出の支援を行った。現在、MAPK の持つ既知結合サイトの抽出法の開発を行っている。本課題は事業終了後も継続し技術提供してゆく予定である(課題番号 2188)。高度化として以下の事業を行った。天然変性領域／構造領域判別システム DICHOT のオンデマンド予測システムを開発した(<http://www.ideal.force.cs.is.nagoya-u.ac.jp/dichot/>)。また、DICHOT オンデマンドシステムの予測モデルについて、構造アノテーションに用いるプロフィール及び天然変性予測学習モデルのアップデートも行った。天然変性タンパク質の天然変性領域に存在する機能領域予測法を開発し、MCC 0.30, sensitivity 19% specificity 98%の性能が得られた。機能領域予測法として二次構造予測法を利用した方法も行い、天然変性領域には未知の機能部位が数万の規模で存在する事が示唆された。新規データ解析法として翻訳速度予測法を開発した。本法を各種プロテオームに適用した結果、球状構造領域との境界から離れるほど天然変性領域のレアコドン使用頻度が高くなる傾向も検出され論文として発表した。天然変性タンパク質データベース IDEAL のアップデートを行い、先行データベース disprot を収録タンパク数で追い抜き天然変性タンパク質の収録数では世界 1 位となった。データベース IDEAL にまとめられている天然変性領域を介したタンパク質相互作用領域の情報をから、複合体情報を選別し代表機関で開発した動的複合体データベースに情報を提供した。ゲノム規模立体構造アノテーションデータベース GTOP をアップデートした。天然変性領域の同義・非同義置換解析を行い、置換速度は天然変性領域、天然変性領域中にある機能部位、構造領域の順に速いことを見いだした。

We conducted the following projects as supporting subjects. We offered support for Prof. Yoshikawa's group at RIKEN to make a homology modeling of FATP3, inferring relations between the tertiary structure and the SNP's, which are suggested to be involved in autism or schizophrenia in their group. The SNP sites are located on the surface of the protein and far from the active site and the substrate binding site, suggesting that these sites may be involved in interactions with binding partners. This work was published in Scientific Report. We offered support for Prof. Mihara's group at Ritumeikan University to assess glycosidases involved in the synthesis of neutral glycosphingolipids as a new target of drugs. We identified some groups of glycosidase families, which can only be found in *Rhizopus oryzae*. We offered support for Associate Prof. Shirakabe at Keio University (currently at Tokyo Medical & Dental Univ.) to assess shedding proteins. We conducted sequence profile analyses to know sequences recognized by sheddases. We offered support for Prof. Ushida at Kyoto prefectural University to conduct proteome annotations and comparisons of *Bifidobacterium* derived from Gorilla's intestines. By this analysis, proteins involved in the carbohydrate metabolism were found to have diverged in *Bifidobacterim* derived from human, suggesting that the change of human diet caused divergence of *Bifidobacterium* in human. We offered support for Associate Prof. Amano at Nagoya University to find sequence motifs recognized by specific kinases. We have been developing a method to find a known motif recognized by MAPK. We will keep supporting their

group after the termination of the grant. We conducted the following projects as advancing subjects. We developed an on-demand system of DICHOT, which offers a prediction of intrinsically disordered regions (IDRs) (<http://www.ideal.force.cs.is.nagoya-u.ac.jp/dichot/>). We also conducted an update of the prediction model and structure profiles used in the DICHOT system. We developed a method to infer protein-binding regions located in IDRs, where MCC, sensitivity, and specificity are 0.30, 19% and 98%, respectively. We utilized secondary structure prediction methods to infer protein-binding regions in IDRs and found that almost thirty thousands of cryptic binding regions are hidden in IDRs in the human proteome. We developed a method to infer translation rate. We applied it on several proteomes of seven model organisms to find that the frequency of rare codons in IDRs is generally high, and becomes higher as the position is farther away from boundaries between structural domains and IDRs. This work was published in *NAR*. The intrinsically disordered protein database, IDEAL was updated to surpass the preceding Disoprot database in term of the numbers of entries. We used protein-binding region data in IDRs in IDEAL for the dynamic complex database, developed in collaboration with the representative brunch at Nagoya Univ. The genome-scale structural annotation database, GTOP was updated. We conducted synonymous and non-synonymous mutation analysis to find more non-synonymous mutations in IDRs than in structural domains.

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 件、国際誌 5 件)

1. Homma, K., Noguchi, T., and Fukuchi, S. Codon usage is less optimized in eukaryotic gene segments encoding intrinsically disordered regions than in those encoding structural domains. *Nucleic Acids Res.*, doi: 10.1093/nar/gkw899, 2016.
2. Ota, M., Gonja, H., Koike, R., and Fukuchi, S., Multiple-localization and hub proteins. *PLoS One*, 11, e0156455, 2016.
3. Maekawa, M. Iwayama, I., 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., Owada, Y., Okano, H., Mori, N., and Yoshikawa, T. (22人中 14 番目), Investigation of the fatty acid transporter-encoding genes SLC27A3 and SLC27A4 in *Autism*. *Scientific Reports*, 5, Article number:16239, 2015.
4. Goda, N., Matsuo, N., Tenno, T., Ishino, S., Ishino, Y., Fukuchi, S., Ota, M., and Hiroaki, H. An optimized N^{pro}-based method for the expression and purification of intrinsically disordered proteins for an NMR study. *Intrinsically Disordered Proteins*.3 DOI: 10.1080/21690707.2015.1011004, 2015.
5. 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* 5, 49, 2014.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 出芽酵母タンパク質の翻訳速度は構造領域の方が天然変性領域より遅いが、その差はリボゾームトンネル無の正電荷の差に起因しない、ポスター、本間桂一、福地佐斗志、39 回日本分子生物学会年会、2016/11、国内。
2. 乳癌細胞においてアポトーシス誘導因子 3 は DNA メチル化により発現を抑制される可能性がある、ポスター、畠山大輝、福地佐斗志、本間桂一、39 回日本分子生物学会年会、2016/11、国内。
3. 天然変性領域中のタンパク質相互作用断片の探索 -二次構造予測からのアプローチ、ポスター、村松桂、安保勲人、佐藤優、福地佐斗志、第 39 回日本分子生物学会年会、2016/11、国内。
4. ペプチドホルモンの天然変性領域率は高い、ポスター、畠山大輝、福地佐斗志、本間桂一、第 16 回日本蛋白質科学会年会、2016/6、国内。
5. 天然変性領域中のタンパク質相互作用断片の探索 -二次構造予測からのアプローチ、ポスター、村松桂、安保勲人、佐藤優、福地佐斗志、第 16 回日本蛋白質科学会年会、2016/6、国内。
6. 出芽酵母タンパク質の翻訳速度は構造領域の方が天然変性領域より遅いが、その差はリボゾームトンネル無の正電荷の差では説明できない、ポスター、本間桂一、福地佐斗志、第 16 回日本蛋白質科学会年会、2016/6、国内。
7. 天然変性領域中のタンパク質相互作用断片の探索 -二次構造予測からのアプローチ、口頭、村松圭、福地佐斗志、第 5 回日本生物物理学会関東支部会、2016/3、国内。
8. 機能性天然変性領域においてタンパク質間相互作用が配列保存性に及ぼす影響、ポスター、大田春輝、福地佐斗志、第 38 回日本分子生物学会年会、2015/11、国内。
9. 天然変性領域中の共通した機能断片はヒト転写因子の機能解析のヒントとなり得るか？ポスター、村上真未、福地佐斗志、第 38 回日本分子生物学会年会、2015/11、国内。
10. 天然変性領域中のタンパク質相互作用断片の探索 二次構造予測からのアプローチ、ポスター、村松圭、安保勲人、佐藤優、福地佐斗志、第 38 回日本分子生物学会年会、2015/11、国内。
11. 天然変性領域における二次構造予測の精度、ポスター、福地佐斗志、佐藤優、安保勲人、第 15 回日本蛋白質学会年会、2015/6、国内。
12. 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、野辺由紀子、細田和男、嘉戸 裕美子、小池亮太郎、廣明秀一、太田元規、第 37 回日本分子生物学会年会、2014/12、国内。
13. アミロイドβタンパク質などのシェディングタンパク質の産生に決定的な役割を果たすのは天然変性領域である、ポスター、都倉秀文、福地佐斗志、本間桂一、第 37 回日本分子生物学会年会、2014/12、国内。

14. 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、福地佐斗志、雨宮崇之、坂本盛宇、野辺由紀子、細田和男、嘉戸 裕美子、小池亮太郎、廣明秀一、太田元規、第 52 回日本生物物理学会年会、2014/9、国内.
15. The IDEAL database - Intrinsically disordered proteins with extensive annotations and literature. ポスター、Fukuchi, S., Amemiya, T., Sakamoto, S., Nobe, Y., Hosoda, K., Kado, Y., Koike, R., Hiroaki, H., Ota, M. Gordon Research Conference. 2014/6、海外.
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、野辺由紀子、細田和男、嘉戸 裕美子、小池亮太郎、廣明秀一、太田元規、第 14 回日本蛋白質科学会年会、2014/6、国内.
17. 単一アミノ酸残基の繰り返し配列の生物間比較、ポスター、永井翔、福地佐斗志、第 36 回日本分子生物学会年会、2013/12、国内.
18. 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、雨宮崇之、坂本盛宇、野辺由紀子、細田和男、嘉戸 裕美子、小池亮太郎、廣明秀一、太田元規、福地佐斗志、第 51 回日本生物物理学会年会、2013/9、国内.
19. 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年会、2013/9、国内.
20. Structural analysis of protean segments (ProSs) in intrinsically disordered proteins (IDPs). ポスター、Shaji, D., Amemiya, T., Fukuchi, S., Ota, M.、日本蛋白質科学会第 13 回年会、2013/6、国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 柔らかなタンパク質、天然変性タンパク質がもたらしたタンパク質のパラダイムチェンジ、福地佐斗志、前橋工科大学公開講座、2014/11、国内.

(4) 特許出願

PCT/JP2015/050131