

課題名 (タイトル) :

## 原子間相互作用摂動解析による生体分子機能の解析と制御

利用者氏名 : 小山 洋平

所属 : 神戸研究所 生命システム研究センター 細胞デザインコア 合成生物学研究グループ

## 1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

所属研究室では哺乳類の概日時計の周期決定にカゼインキナーゼタンパク質 (CKI) が重要であり、そのリン酸化の反応速度が温度変化に対して頑強であることを明らかにしてきた [Y. Isojima, M. Nakajima, H. Ukai et al., PNAS 106, 15744-15749 (2009)]. この温度に対する頑強性を理解するために、CKI タンパク質の分子動力学シミュレーションと蛍光ゆらぎ計測を用いたペプチドと CKI タンパク質の相互作用のモデル推定を行っている。様々な実験データを比較するために分子の結合モデルを自動的に推定するための手法の開発を前年度から引き続き行った (図 1)。

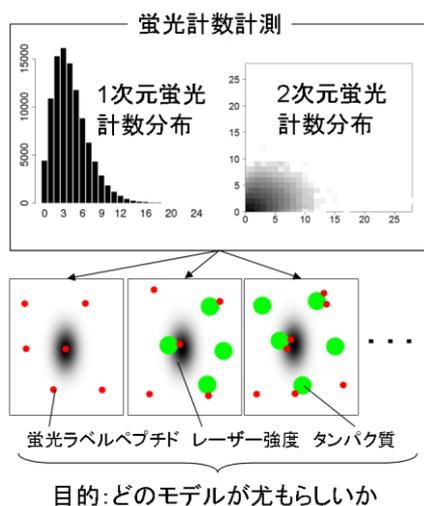


図 1 蛍光計数分布からの分子結合状態自動推定

## 2. 具体的な利用内容、計算方法

Amber10 を用いて CKI タンパク質の長時間の分子動力学シミュレーションを 25°C と 35°C で実行し、実験結果の構造的な機構を示唆する結果が得られた。また、今年度に所属研究室の実験で新たに見出された現象を理解するために、対応する条件でのシミュレーションを開始した。なお実験結果が未発表であるため、詳細については省略する。

前年度に統計ソフトの R で実装していた蛍光計数分

布解析プログラムを C++ で実装し、アルゴリズムや機能を拡張した。パラメーター推定には最尤推定 (対数尤度関数の最大化) を数値最適化により行った。対数尤度関数の計算には蛍光計数分布の計算が必要である。蛍光計数分布を理論的に計算するために PCH および FIDA という手法が開発された。これらが複合ポアソン分布という分布族に属することから漸化式を用いた厳密な計算が可能であることを明らかにした。効率的な数値最適化には関数値だけでなく、その 1 階 (必要に応じて 2 階) 微分の情報も必要になるが、畳み込みを用いて厳密に計算できることを明らかにした。数値最適化には Argonne National Laboratory の TAO ライブラリを導入し、様々な最適化アルゴリズムや初期値で最尤推定のテストを行い、幅広い条件で最適解に収束する組み合わせを探した。また数値積分や乱数生成をするために GSL (GNU Scientific Library)、級数の精度を向上するために部分的に GNU MP (GNU Multiple Precision Arithmetic Library)、蛍光計数分布の計算の 1 つの方法として高速フーリエ変換を用いるために FFTW ライブラリを利用した。同一の蛍光計数分布データに対して複数のモデルで最尤推定を行い、どのモデルが尤もらしいかを推定するために Bayesian information criteria (BIC) を用いてモデル選択を行った。

## 3. 結果

蛍光計数分布の計算手法を比較した結果、フーリエ変換を用いた手法では分布の値を幅広いパラメーターの範囲で正確に計算することは困難であり、パラメーター探索のエラーの主要因となることが分かった。以下では漸化式で分布の正確な計算した。

データから正しいモデルが推定できるかを検証するために、実験データではなくシミュレーションで生成した蛍光計数分布を用いてテストを行った (図 2)。モデルとしては 1 対 1 で結合し (フリーのペプチド、タンパク質に結合したペプチドの計 2 成分)、レーザー強度のガウス分布からの補正は 1 次補正とした。

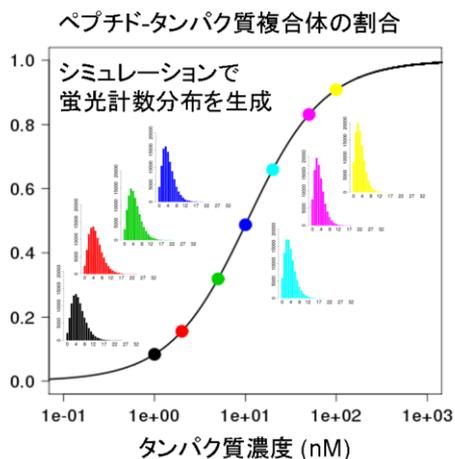


図 2 テストデータの生成 (1 対 1 結合モデル)

このデータに対し、(1-3 成分) × (レーザー強度の 0-4 次補正) の計 15 モデルに対して最尤推定を行い、その結果に対してモデル選択を適用した。BIC の値が小さいほどそのモデルが尤もらしいとみなされるが、BIC 最小モデルが 2 成分 1 次補正となり、シミュレーションに用いた正しいモデルが選択された (図 3)。

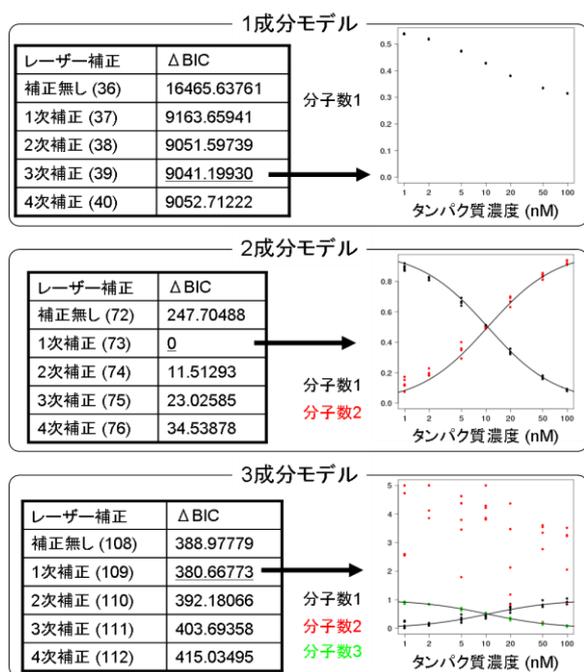


図 3 蛍光計数分布のモデル選択

#### 4. まとめ

蛍光計数分布やそのパラメーターに関する微分の正確な計算および数値最適化アルゴリズムの検討により、分布データから分子の結合状態 (成分数) を最尤推定とモデル選択により決定できた[1]。CKI タンパク質の分子動力学シミュレーションでは実験の構造的な機構を示唆する結果が得られたが実験結果が未発表であるため詳細は省略した。

#### 5. 今後の計画・展望

蛍光計数分布解析の手法およびプログラムについては今年度でその有効性が実証できたため、来年度は実験の研究者の方が RICC で本プログラムを利用し、実験データの解析をできるようにする予定である。また、今年度開始した新たな条件での CKI タンパク質の分子動力学シミュレーションは引き続き行い、来年度に実験結果との比較を行う予定である。また、報告者がこれまでに開発してきた分子動力学シミュレーションデータの解析手法をモデルタンパク質に適用する予定であったが、今年度はあまり進まなかったため、来年度に実施したいと考えている。また、このような解析のためには包括的な構造サンプリングが必須であるため、来年度から分子動力学シミュレーションの構造サンプリング手法の開発も行う予定である。

平成 24 年度 RICC 利用研究成果リスト

**【国際会議、学会などでの口頭発表】**

[1] 蛍光計数分布からの生体分子結合状態の自動推定：複合ポアソン分布による定式化

小山洋平

第 15 回情報論的学習理論ワークショップ (IBIS2012)

筑波大学東京キャンパス文京校舎 2012 年 11 月 8 日