

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\*, 篠原 雄太\*\*

所属 : \* 生命システム研究センター 計算分子設計研究グループ

\*\* 生命システム研究センター 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

① マイクロ秒 MD シミュレーションの相互作用摂動解析

タンパク質は複数の構造を形成することで複雑な機能を発揮している。このような複数の構造は分子内や分子間の相互作用の異なる組み合わせにより安定化されていると考えられる。申請者はこのような構造状態を原子間相互作用の異なる組み合わせとして理解するために、分子内相互作用摂動解析 (PEPCA) [Y. M. Koyama et al., Phys. Rev. E 78, 046702 (2008)] および分子間相互作用摂動解析 (DIPA) [Y. M. Koyama et al., Phys. Rev. E 84, 026704 (2011)] を開発し、モデルペプチドに対してはその有効性を実証できた。本課題ではより大きなタンパク質に対して相互作用の摂動解析を行うことで、タンパク質の機能を原子間相互作用のパターン変化として理解することを目指す。

具体的な生命現象としては概日時計の周期決定に重要であるカゼインキナーゼ (CKI) タンパク質のリン酸化反応速度が温度に対して変化しないという頑強性 [Y. Isojima, M. Nakajima, H. Ukai et al., PNAS 106, 15744-15749 (2009)] についての構造的な理解を目指す。このためにマイクロ秒スケールの分子動力学 (MD) シミュレーションを低温および高温で行い、その差異を生み出している相互作用を PEPCA により明らかにする。CKI の生化学的な解析は合成生物学研究グループで行われており、実験による結果と比較する。

また、実験による詳細な解析が行われている小型のモデルタンパク質を用いてマイクロ秒スケールの MD シミュレーションを実行し、PEPCA や DIPA を適用することでタンパク質の構造状態を明らかにし、機能との関係を相互作用のパターン変化から明らかにする。

② 蛍光ゆらぎ解析による分子間相互作用モデルの自動推定

タンパク質と基質 (化合物、ペプチド、タンパク質、DNA) 間の結合・解離定数や結合・解離速度定数のような生化学的なパラメーターを求めることは生体分子機能を理解する上で必須である。申請者はこれまでに蛍光標識された基質から放出される蛍光の分布からどのような相互作用モデルが尤もらしいかを自動的に推定するための手法を開発してきている [小山、第 15 回情報論的学習理論ワークショップ (IBIS2012) (2012)]。この手法を用いて CKI と基質ペプチドの相互作用ダイナミクスとその温度 (非) 依存性を明らかにすることを目指す。

2. 具体的な利用内容、計算方法

① CKI タンパク質について化合物の結合状態が異なる 3 つの条件でそれぞれ 25°C と 35°C の計 6 条件で 1.5 マイクロ秒の MD シミュレーションを行った。この結果に対してアミノ酸間の相互作用エネルギーを用いて PEPCA を適用した。小型のモデルタンパク質としてはユビキチンとリボヌクレアーゼの MD シミュレーションを行った。

② 昨年度までは最尤推定を行うための数値最適化ライブラリとして Argonne National Laboratory の TAO (active set method; 有効制約法) を使用していたが、1 次微分情報を使用する手法に対して 2 次の情報 (Hessian) を使用する方法を用いても解に至るまでの反復回数が改善しなかったため、内点法 (interior point method) のライブラリである Ipopt を用いてプログラムを書き直した。

また、これまで用いていたレーザーの強度を表す点拡がり関数 (point spread function; PSF) を補正する手法に理論的な問題点があることを明らかにした。これを解決するための方法を考案

し、新たに導入したパラメーターに関する 1,2 次微分の解析的な式を導出し、プログラムに実装した。

以上のプログラムを用いて、結合部位が 2 つある抗原・抗体反応の実験データを用いて様々な条件（1 分子が発する蛍光分布の計算法、複数分子が発する蛍光分布の計算法、微分に必要な量み込みの計算法、パラメーター初期値）でテストを行った。

### 3. 結果

①CKI のシミュレーションの結果、各条件で特徴的な構造変化が観察された（未発表データのため、詳細は省略する）。このデータに対して PEPCA を適用し、構造変化に関わるアミノ酸間の相互作用を同定した。現在、合成生物学研究グループにおいてこれらのアミノ酸の変異体が作成されており、活性への影響が評価される予定である。

②蛍光ゆらぎ解析のプログラムで Ipopt と新たな PSF の補正法および Hessian による実装を導入することで、最適化の途中にエラーが出ることなく、より少ない反復回数で収束するようになった。また、蛍光測定の実験条件が適切であれば、1 から 4 成分モデル（2 成分モデルは結合部位が 1 つ、3 成分モデルは結合部位が 2 つに対応）のパラメーターを推定するのに 10 秒程度で計算が終了するようになった。

### 4. まとめ

CKI の MD シミュレーションの結果、各条件で特徴的な構造変化が見られ、PEPCA によりその変化に関与している相互作用を明らかにした。現時点ではこの構造変化が CKI の温度変化に対する頑強性に関与しているかは不明であるが、変異体の実験結果と比較することでその検証を行っている。

本年度に PSF の新たな補正方法および非線形最適化ライブラリである Ipopt の導入により、蛍光計数分布のデータから相互作用のモデルを自動的に推定するための効率的なプログラムがほぼ完成した。

なお、今年度は上記の解決（PSF の補正法、反復回数の改善）に時間がかかってしまったため、ユビキチンとリボヌクレアーゼの解析が進まな

かった。

### 5. 今後の計画・展望

蛍光ゆらぎ解析のプログラムについては実用レベルに達したと考えられるので今年中にはプログラムを公開したいと考えている。また、CKI と基質ペプチドの解析も進めていきたい。来年には分子動力学専用計算機 MDGRAPE-4 が本格的に稼動予定であるが、長時間のシミュレーションが可能になりデータ量が従来の 100 倍以上となるため、PEPCA を現在のプログラムで実行することが困難であると予想される。このため、PEPCA を大規模なデータにも適用できるようなプログラムを開発する。本年度実行したユビキチンとリボヌクレアーゼの MD シミュレーションのデータを用いてテストを行い、MDGRAPE-4 の大規模データ解析にスムーズにつながるようにしたい。