

氏名	山本 雄大
学位の種類	博士（理学）
学位記番号	博甲第10743号
学位授与年月日	令和5年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査学術院	理工情報生命学術院
学位論文題目	Theoretical studies on effects of protein-ligand/protein-protein interactions on protein functions (タンパク質機能に対するタンパク質-リガンド/-タンパク質相互作用の理論解析)

主査	筑波大学教授	博士(理学)	大谷実
副査	筑波大学教授	博士(学術)	都倉康弘
副査	筑波大学教授	博士(理学)	岡田晋
副査	筑波大学教授	博士(理学)	重田育照
副査	筑波大学准教授	博士(理学)	原田隆平

論 文 の 要 旨

情報処理技術はコンピューター性能向上や利用可能分野拡大に伴って、今や昨今の現代社会になくしてはならない存在となっている。研究分野への利用も例外ではない。分子軌道計算や分子シミュレーション等の計算科学的解析手法は、物理・化学・薬学などの幅広い分野の基礎/応用研究に用いられている。計算科学的解析手法を用いる利点として挙げられるのは、実験的解析では得られない分子レベルの現象解析を効率的に行えるところである。Molecular dynamics (MD) シミュレーションや Fragment molecular orbital (FMO) 計算は、タンパク質や生体膜、高分子素材などの大規模系を計算科学的に解析する非常に有用な手法である。しかし、これらの手法によって解析した際、計算によって得られるデータ量が膨大になり、人為的な解析が困難である部分も多い。近年、これまでの仮説駆動型科学からデータ駆動型科学へと科学研究に対するアプローチがシフトし始め、ビックデータからいかにして有用な情報を取り出すかが重要となっている。M. Sultanらによって機械学習の1つである Random Forest (RF) 法を用いた解析例も報告され、機械学習を用いた解析ツールの開発が注目されてきている。

そこで本博士論文では、いくつかのタンパク質に対して計算科学的解析を行い、それらタンパク質の新たな科学的知見を明らかにするとともに、新規解析手法の確立に取り組んだ。第二章では、FMO法に着目し、新規薬剤とその受容体に対するタンパク質-リガンド相互作用解析を実施した。第三章では、二章の結果からFMO法をタンパク質-タンパク質間相互作用解析に対しても有用であると考えられるため、犬ジステンパーウイルス(CDV)とリンパ球活性化分子(SLAM)とのタンパク質-タンパク質間相互作用解析を実施した。第四章では、前章までの知見をもとにFMO法を用いた新規解析ツールの構築とその手法の検証を実施した。第五章では、四章で構築した解析ツールを用いて詳細な分子機構が明らかとなっていないタンパク質に対する解析を実施した。第六章では、総論として結果をまとめるとともに、今後の展望

について議論している。以下に二章から五章の個々の研究内容について、概要を示す。

第二章 PPAR α とその新規リガンドであるペマフィブラートの結合モデルに関する理論的研究

Peroxisome proliferator activated receptor α (PPAR α) は、脂質の恒常性制御に関与するリガンド依存型転写因子であり、高トリグリセリド血症を改善することが知られている。ペマフィブラートは、PPAR α の転写活性を活性化させる新規選択的 PPAR α モジュレーター (SPPARM α) である。本章では、ペマフィブラートが結合したヒト PPAR α (hPPAR α) と、既知モジュレーター (フェノフィブラート) と複合体化した hPPAR α の構造を計算科学的に構築し、FMO 法を用いてタンパク質とリガンド間の相互作用解析を実施した。解析の結果、ペマフィブラートは PPAR α に対して新しい結合様式で結合しており、これにより SPPARM α の機能を発揮していることが判明した。このペマフィブラートのユニークな結合様式は、核内受容体リガンドの新しい認識パターンを明らかにし、リガンド設計の新しい基礎を示唆するもので、リガンドの結合親和性と選択性を向上させ、より良い臨床結果を得るための手がかりとなった。

第三章 CDV/SLAM タンパク質間相互作用の宿主間感染に関する計算科学研究

モルビリウイルス (MoV) は、モノネガウイルス目パラミクソウイルス科パラミクソウイルス亜科モルビリウイルス属に分類されているウイルスの総称である。MoV による宿主への感染は、ウイルスのヘマグルチニン (H タンパク質) とシグナル伝達を行うリンパ球活性化分子 (SLAM) の相互作用によって促進される。既報の論文によると、ヒト SLAM の N 末端領域が麻疹ウイルス受容体として機能的に重要であることが示された。しかし、この領域は非常に柔軟であるため、X 線結晶構造解析による正確な構造決定が困難であったこともあり、他のモルビリウイルスによる感染過程や宿主範囲決定におけるこの領域の機能的役割は不明であった。そこで本章では、ジステンパーウイルス由来の H タンパク質 (CDV-H) と SLAM の相互作用を計算化学的手法で解析した。MD シミュレーションと FMO 法により、SLAM の N 末端領域の His28 が CDV-H と安定な相互作用の形成を可能にする重要な決定因子であり、CDV 感染のトリガーとなることが示された。

第四章 Random Forest-Fragment Molecular Orbital (RF-FMO) 法によるタンパク質の動的相互作用解析手法の開発と Src チロシンキナーゼへの応用研究

本章では、機械学習アルゴリズムであるランダムフォレスト (RF) 法と FMO 法に基づく相互作用解析を組み合わせることで、重要な相互作用を効率的に発見する方法 (RF-FMO) を確立した。また、これまで行われてきた多岐にわたる研究により、機能発現メカニズムが分子レベルで明らかとされている Src-Kinase を解析対象とし、開発した RF-FMO の有効性を検証した。まず、Src-Kinase の active 型と inactive 型の両方について MD シミュレーションを行い、それぞれ 50 スナップショットをランダムに抽出した。そして、FMO 計算により、相互作用エネルギーを算出した。最終的に全 623 残基、34453 個のアミノ酸残基間の相互作用エネルギーの中から、active - inactive 遷移を制御している重要なアミノ酸 32 残基 (抽出率 5.1%) と 61 残基ペア (抽出率 0.2%) を自動抽出することに成功した。この結果は、これまで手作業によって行われてきた FMO 相互作用解析に代わり、膨大な相互作用エネルギーデータから構造変化に重要な相互作用を自動的に抽出することができる手法であることを示している。本章の解析結果は、過去の実験結果と一致し、開発した手法の有用性を示した。

第四章 hCtBP2 の open \leftrightarrow close 状態遷移の制御機構に関する理論的研究

CtBP family は、さまざまな生物中に存在し、複数の生物学的役割を有しているといわれている。哺乳動物の CtBP は、がんや代謝疾患に関連する転写抑制因子との複合体を形成する共役抑制因子として働くことがよく知られている。しかし、複合体形成には、自身の構造変化や会合状態、細胞内の NADH/NAD⁺ 状態が影響すると指摘されているが、詳細な分子機構は明らかにされていない。そこで、RF-FMO を用いて hCtBP2 を解析したところ、自動抽出されたアミノ酸残基は 1324 残基中 25 残基(抽出率:1.9%)、相互作用エネルギーは 875826 個中 57 個(抽出率:0.007%)となった。抽出されたアミノ酸残基相互作用エネルギーペアを解析したところ、His321 との相互作用が多く抽出されていることが明らかとなった。この結果から、hCtBP2 において His321 を介する相互作用ネットワークが重要であるということが示唆された。特に、His83, Glu301 および His321 が形成する相互作用ネットワークの変化によって Open state と Closed state のスイッチングが行われていることが明らかとなり、hCtBP2 のもつ機能と構造変化の相関を解明した。

審 査 の 要 旨

〔批評〕

本学位論文では、第一原理計算、分子動力学計算、データ科学的手法など、原子レベルでの計算生物物理学的手法を駆使し、タンパク質-リガンド、タンパク質-タンパク質相互作用解析を通じて、その機能を明らかにした。特に、PPAR α とその新規リガンドであるペマフィブラートの結合モデルに関する理論的研究、CDV/SLAM タンパク質間相互作用の宿主間感染に関する計算科学的研究、および、Random Forest-Fragment Molecular Orbital (RF-FMO) 法によるタンパク質の動的相互作用解析手法の開発と Src チロシンキナーゼへの応用研究など、それぞれのタンパク質機能の物理的メカニズムを明らかにした。タンパク質-リガンド、タンパク質-タンパク質相互作用の研究は、生命科学において極めて本質的であり、この分野における技術的進歩は、生物物理学の分野のみならず、創薬、医学、農学における大きな進展と発見を可能にしている。従って本博士論文では、物理学的理論に基づき、物質科学と生命科学を横断した学際融合領域の研究を開拓するなど、その学術的価値は極めて高い。

〔最終試験結果〕

令和5年2月14日、理工情報生命学術院学位論文審査委員会において審査委員の全員出席のもと、著者に論文について説明を求め、関連事項につき質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって、合格と判定された。

〔結論〕

上記の論文審査ならびに最終試験の結果に基づき、著者は博士(理学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。