

## 研究課題別評価

1 研究課題名:たんぱく質の構造機能相関を利用した構造からの機能予測法

2 研究者氏名:木下 賢吾

3 研究の狙い:

既に数多くの立体構造が明らかにされ、機能情報も十分に蓄積されているモノヌクレオチド結合たんぱく質を足がかりとして、構造と機能の関係を系統的に解析し、そこで得られた知見を利用して、機能未知たんぱく質の機能を推定する方法の開発を目指す。

4 研究成果:

この3年の間だけでも新たに100種以上の微生物以上のゲノムの塩基配列が明らかにされ、全ゲノム配列が明らかにされた生物種は合わせて200種を超えたが、これらゲノム上の遺伝子の約半数が機能未知遺伝子である。生物を分子レベルで理解するためには、これらゲノム上の遺伝子産物であるたんぱく質の機能を同定が急務である。そこで本研究では、従来の配列解析を超えた機能予測法を開発するために、配列 構造 機能という第一原理に則った、立体構造からの機能を予測する方法の開発を行ってきた。

これまでに、低分子との複合体で立体構造が明らかにされているたんぱく質の結合部位データベース (eF-site: <http://www.pdbj.org/eF-site>) を構築し、フォールドレベル、原子レベル、分子表面といった異なったレベルでの構造比較を併用し構造機能相関の系統的な解析を行ってきた。まずモノヌクレオチド結合たんぱく質でのモノヌクレオチド認識の構造的基盤を調べ、続いてたんぱく質機能の最初のステップである基質認識部位の予測法の開発へと発展させてきた。その結果特に、分子表面の形状と静電ポテンシャルの類似性に注目することにより、進化的類縁関係を超えたレベルの類似性を検出できることを見だし、実際に機能未知のたんぱく質に応用できる方法の開発を行うことができた。この方法は基質結合部位の予測であるが、複数の基質結合部位の情報を組み合わせることにより、機能未知のたんぱく質の生化学的な機能を推定できる可能性も同時に示すことができた。

以上の結果、低分子リガンドとたんぱく質の相互作用部位の予測に関しては実用レベルの方法を開発することができつつあり、実際に結構解析を行っている研究者との共同研究として、機能未知のたんぱく質に応用し、有望な結果を得ることができてきている。また分子表面の形状と物性に注目することにより、高い精度でたんぱく質のDNA結合部位を予測する方法を構築することもできた。

5 自己評価:

本研究テーマの期間中に予測法の開発という観点では非常に良い物ができつつあるが、構造機能相関に関する一般的なルールや知見の発見という観点ではまだ納得いく結果を得られていない点が心残りである。構造機能相関の一般論という大きなテーマに関しては、今後もねばり強く取り組んでいきたいと思っている。また今回開発した方法に関して、既知の物での性能評価は良い結果をあげることができているが、機能未知のたんぱく質に関する結果に関しての直接的な実験での証明が、まだ十分でないのが残念である。今後も継続して実験での検証を進め、方法の改善をしていきたいと考えている。今回構造からの機能予測法を開発してみて、改めてこのような研究の重要性を痛感するとともに、化学的な機能のみならず生物学的な機能に関しても構造から何らかの知見を得られるような方法の開発を模索していきたいと考えるようになった。

## 6 研究総括の見解:

分子表面および表面上の静電ポテンシャルの類似性に着眼して、機能未知蛋白質の機能を予測する機能部位データベースの開発に成功した。国内外で高く評価されている。ともすると安きに就きやすいバイオインフォマティクス研究において、よく頭を使った研究を進めていて、将来が期待できる。本研究はH16年度SORST研究に採択されたので、今後蛋白質同士の相互作用による構造予測法に繋がることを期待している。

## 7 主な論文等:

### 論文

1. Kinoshita, K and Nakamura, H. Identification of the ligand binding sites on the molecular surface of proteins, *Protein Science*, 2005 in press
2. Tsuchiya, Y., Kinoshita, K. & Nakamura, H. PreDs: a server for predicting dsDNA-binding site on protein molecular surfaces. *Bioinformatics*, 2005 in press.
3. Nameki N, Yoneyama M, Koshiba S, Tochio N, Inoue M, Seki E, Matsuda T, Tomo Y, Saito K, Kobayashi N, Yabuki T, Aoki M, Nunokawa E, Matsuda N, Sakagami N, Terada T, Shirouzu M, Yoshida M, Hirota H, Osanai T, Tanaka A, Arakawa T, Carninci P, Kawai J, Hayashizaki Y, Kinoshita K, Guntert P, Kigawa, Yokohaya S, Solution structure of the RWD domain of the mouse GCN2 protein, *Protein Science*, 13, 2089-2100, 2004
4. Tsuchiya Y, Kinoshita K, Nakamura H. Structure-based prediction of DNA-binding sites on proteins using the empirical preference of electrostatic potential and the shape of molecular surfaces, *Proteins: Struct. Funct. Bioinformatics*, 55, 885-894 (2004)
5. Koike R, Kinoshita K, Kidera A. Probabilistic Description of Protein Alignments for Sequences and Structures, *Proteins: Struct. Funct. Genetics*, 56, 157-166 (2004)
6. Kinoshita K and Nakamura H. eF-site and PDBjViewer: Database and Viewer for Protein Functional Sites. *Bioinformatics*, 20, 1329-1330 (2004)
7. Matsuda K, Nishioka T, Kinoshita K, Kawabata T, Go N. Finding evolutionary relations beyond superfamilies: Fold-based superfamilies, *Protein Science*, 12, 2239-2251 (2003)
8. Kinoshita K and Nakamura H. Identification of protein biochemical functions by similarity search using the molecular surface database, eF-site. *Protein Science*, 12, 1589-1595 (2003)
9. Handa N, Terada T, Kamewari Y, Hamana H, Tame JRH, Park SY, Kinoshita K, Ota M, Nakamura H, Kuramitsu S, Shirouzu M, and Yokoyama S. Crystal structure of the conserved protein TT1542 from *Thermus thermophilus* HB8. *Protein Science*, 12, 1621-1632 (2003)
10. Kinoshita K and Haruki Nakamura. Protein informatics towards function identification, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 13, 396-400. (2003)
11. Ota M, Kinoshita K and Nishikawa K Prediction of catalytic residues in enzymes based on known tertiary structure, stability profile, and sequence conservation,. *J Mol Biol*, 327, 1053-1064 (2003)
12. Koike R, Kinoshita K, and Kidera A. Ring and zipper formation is the key to understanding the structural variety in all-beta proteins, *FEBS Lett*, 533, 9-13. (2003)
13. Kinoshita K, Furui J, and Nakamura H. Identification of Protein Functions from a Molecular Surface Database, eF-site, *J. Struct. Funct. Genomics*, 2, 9-22. (2002)
14. Matsushita K, Kinoshita K, Matsuoka T, Fujita A, Fujikado T, Tano Y, Nakamura H, and Kurachi Y. Intramolecular interaction of SUR2 subtypes for intracellular ADP-Induced differential control of K(ATP) channels, *Circ Res*, 90, 554-61. (2002)
15. Sawada Y, Kinoshita K, Akashi T, Aoki T, and Ayabe S. Key amino acid residues required

for aryl migration catalysed by the cytochrome P450 2-hydroxyisoflavanone synthase, *Plant J*, 31, 555-64. (2002)

#### 出版物

1. 木下賢吾、タンパク質の表面物性の類似性にもとづく機能予測、生物物理、44, 150-154 (2004)
2. 木下賢吾、中村春木、蛋白質構造から見た生物情報、バイオインフォマティクス、応用生命科学シリーズ9 (東京化学同人)、美宅成樹、榊佳之編、164-190, 2003
3. 中村春木、神谷成敏、肥後順一、木下賢吾、たんぱく質の立体構造に基づく物理情報学、応用物理、71, 1474-1480 (2002)
4. 木下賢吾、中村春木、タンパク質分子表面形状と物性のデータベースeF-siteによる分子機能類似性検索、生物物理、42, 20-23, (2002).
5. 木下賢吾、蛋白質立体構造と機能の関係についてのデータベースからの知見、蛋白質核酸酵素、47, 1064-1075、(2002).
6. 木下賢吾、蛋白質立体構造と機能の関係、医学の歩み、200、609-614、(2002)

#### 特許

1. 特願2003-279375 三次元構造データベースから特定のリガンドが結合した生体高分子を検索する検索方法、検索装置、検索プログラム及び記録媒体  
出願人: 科学技術振興事業団 出願日: 2003年7月24日、
2. 特願2002-365709 データ処理装置、データ処理方法、データ処理プログラム及び記録媒体  
出願人: 科学技術振興事業団 出願日: 2002年12月17日、

#### 招待講演

1. Kinoshita K, Identification of the ligand binding sites on the molecular surface of proteins., The Fourth KIAS Conference on Protein Structure and Function: Theories and Computer Simulations of Proteins, 2004
2. Kinoshita K. Identification of protein biochemical function from molecular surface analysis, International Workshop: Integrated Databases and DataGrid for Structural Biology and Molecular Biology, 2004
3. Kinoshita K. Identification of protein biochemical function from molecular surface analysis, , Second Asian Joint Workshop for Protein Informatics, 2003
4. 木下賢吾、Identification of protein biochemical function from molecular surface analysis, 生物物理学会, 2003年
5. 木下賢吾、分子表面の形状及び物性の類似性検索による蛋白質の生化学機能部位の推定, 蛋白質科学会, 2003年
6. Kinoshita K, Tsuchiya Y, Nakamura H. Analysis of complementarity of protein-DNA interactions using the molecular surface database, eF-site, ICSG2002, 2002