

細胞内蛋白質間相互作用 精密数理モデル化による  
高精度な測定系構築

Construction of precise assays by the mathematical modeling of  
intracellular protein-protein interaction

上田 宏, 科学技術創成研究院化学生命科学研究所

【研究目的】

本研究においては、発光酵素変異体を用いたタンパク質間相互作用検出系 FlimPIA<sup>1</sup>の性能を、共同研究者の専門である細胞内酵素反応の数理モデル構築<sup>2</sup>を応用して向上させるとともに、新たに申請者らが開発を進めている、高性能蛋白質間相互作用検出系 TriPCA<sup>3</sup>の数理モデル構築を試みる。これらの理論的検討により、研究グループの国際競争力強化をはかる。

【研究方法】

- 1) FlimPIA (Firefly Luminescent Intermediate-Based Protein-Protein Interaction Assay)高感度多色細胞内検出系の数理モデルの確立

試験管内実験データと数理モデルの完全フィットを目指し、共同研究者で数理モデルの立案者である加藤准教授が、東工大において、ルミノメータおよび、FlimPIA検出系で使用されているアミノ酸置換体ルシフェラーズを用いて、酵素反応速度を、発光を指標にデータを取得し、数理モデルとの合致性を検討した。また、高速液体クロマトグラフィー、および、ESI-MSを用いて、基質と生成物の質量同定を行った。

- 2) 高性能蛋白質間相互作用検出系 TriPCA (Tri-Protein-fragments complementation assay)の数理モデルの確立

これまでに上田研究室内で得られていたデータを利用し、また、実際の検出に使用されている機器類のオペレーションについて意見交換を行い、数理モデルの確立を試みた。

【研究結果】

FlimPIA数理モデルの確立：

酵素反応速度を測定した実験においては、数理モデル中の酵素反応速度論には問題がないことが判明した。しかしながら、基質と生成物の質量同定の結果、FlimPIAの反応中間物質は数理モデル中で考えているよりも、安定性および発光率が圧倒的に低いことが判明した。これまで明らかでなかった、アミノ酸置換体ルシフェラーズの構造変化を数理モデルから予測することが可能となった

TriPCAの数理モデルの確立：不足データがあることが判明した。

## 【考察】

今回の研究により、数理モデルの応用は、FlimPIAのみならず、アミノ酸置換体ルシフェラーズ全てにおいて、その構造および反応速度の変化の詳細を説明できると考察された。また、TriPCAの数理モデル化も、新たなデータを取得することで可能なことが示唆された。

## 【まとめ】

今回の共同研究により、数理モデルは、発光酵素の構造および反応速度の変化を説明するために大変有用であることが確認された。

## 【引用文献】

- 1) Kurihara, M.; Ohmuro-Matsuyama, Y.; Ayabe, K.; Yamashita, T.; Yamaji, H.; Ueda, H. Ultra sensitive firefly luciferase-based protein-protein interaction assay (FlimPIA) attained by hinge region engineering and optimized reaction conditions. *Biotechnology J.* **11**, 91–99, 2016.
- 2) Dale, Y. Ohmuro-Matsuyama, H. Ueda and N. Kato "Mathematica model of the firefly luciferase complementation assay reveals a non-linear relationship between the detected luminescence and the affinity of the protein pair being analyzed" *PLoS ONE* **11**, e0148256, 2016.
- 3) Ohmuro-Matsuyama, Y. and Ueda, H. *Anal. Chem.* **90**, 3001-4, 2018

## 【成果発表】

2018 Nov 29, U Northwestern

**Invited seminar** Renee Dale, Mathematical Modeling in Firefly luciferase and the mutants

2018 Nov 12, Danforth Plant Science Center

**Invited seminar** Renee Dale, Mathematical Modeling in Firefly luciferase and the mutants

2018 Apr 18, Online

CIRTL Teaching-As-Research Network

**Invited talk** Renee Dale, Student gains in a graduate course on mathematical modeling in cell biology