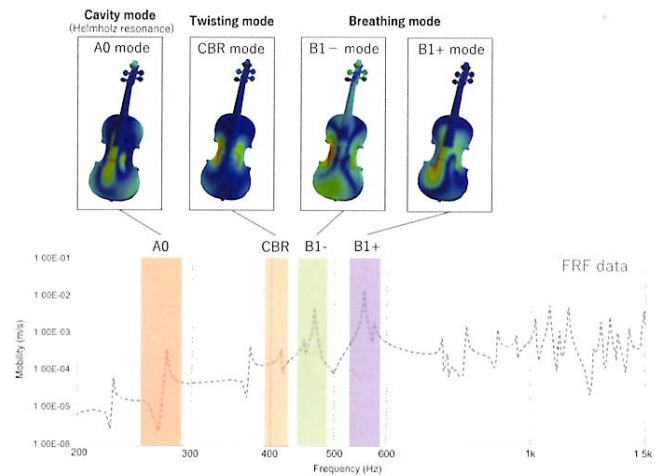
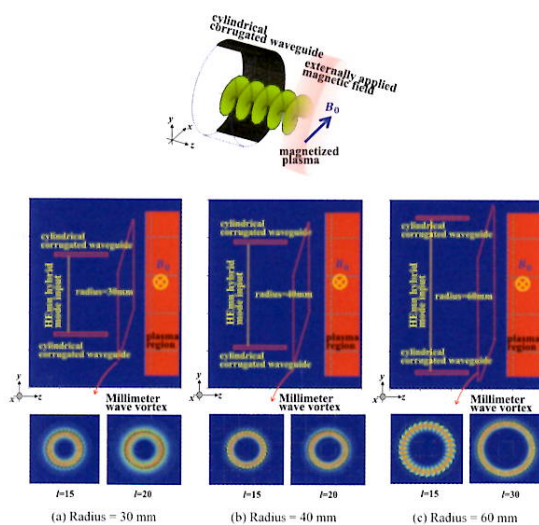


シミュレーション

JOURNAL OF THE JAPAN SOCIETY FOR SIMULATION TECHNOLOGY

小特集：JSST2024 Outstanding Presentation Award 授賞記念



巻頭言 生成 AI 時代における教育の課題

2025 年度「学会賞」贈賞報告

小特集 JSST2024 Outstanding Presentation Award 授賞記念

二種イオンの Bohm 条件に対する非等方イオン圧力
プラズマ流体スキームの性能

プラズマ中へのミリ波渦の透過電力のトポロジカル
電荷依存性

大型ヘリカル装置 LHD におけるプラズマ放射崩壊時
の特徴的輻射構造の可視化

非対称 EFG 型鞍点問題に対する高性能ソルバーの
一般化

真の固有対が明らかな実対称固有値問題の高速
生成法

真珠層の構造的発色と結晶軸の関係性を探る

Gappy-POD を用いた Reduced Quadrature 法の提案
Violin の弦圧影響可視化のための有限要素法による数値
シミュレーション

最先端研究

AI が拓く植物ペプチド-受容体相互作用解析の新展開

講座

3 次元計測で取得される大規模点群データを用いた
可視化技術：有形文化財を主な事例として (第 2 回)

製品開発とシミュレーション

意匠空間を考慮した自動車の多目的空力設計探索フレーム
ワークの構築

製品開発とシミュレーション

VR 分子構造共有ソフトウェア「MolCollabo」による
可視化とメタバース

最先端研究

AI が拓く 植物ペプチド-受容体相互作用解析の新展開

花田 耕介^{*1}・武田 智之^{*1}・岡本 昌憲^{*2}・多田 安臣^{*3}・塩生 真史^{*4}

New Frontiers in Analyzing Plant Peptide-Receptor Interactions Opened by AI

Kousuke Hanada^{*1}, Tomoyuki Takeda^{*1}, Masanori Okamoto^{*2},
Yasuomi Tada^{*3} and Masafumi Shionyu^{*4}

Key words: Plant, Intercellular Signaling, Peptide, Receptor, AI

1. 要約

植物は移動できないため、外界の環境変化を感知し、細胞間シグナル伝達によって全身へ情報を伝える。この過程では、環境刺激を受けた細胞がシグナル分子を放出し、他の細胞がそれを受容することで、形態的・生理的变化を引き起こす。近年、植物では、100 アミノ酸以下の短い遺伝子にコードされる細胞外分泌ペプチドが、この細胞間シグナル伝達に重要な役割を果たすことが明らかになりつつある。これらの細胞外分泌ペプチドをペプチドホルモンと呼ぶ。これらは、発現量や発現部位が限定的であるため、長らく見落とされてきたが、シロイヌナズナでは22種のペプチドホルモンとその受容体が同定されている。ペプチドホルモンは多様な起源を持つ一方で、その受容体は主に膜タンパク質である LRR 型受容体キナーゼである。植物におけるペプチドと受容体間の相互作用は、X 線結晶構造解析などの実験的手法によって個別に同定されてきた。一方で、近年発達した AI 技術の利用は、相互作用部位の高精度な予測を、実験を介さずに可能とすることが期待できる。そこで、本研究では、既知の12種類のペプチドホルモン-受容体複合体を用い、AI 技術を利用し相互作用部位の推定を試みた。加えて、内生ペプチドホルモンよりも親和性が高いペプチドの設計を試みた。その結果、結合親和性および生理活性が向上する強化ペプチドホルモンの開発にも成功した。このよう

に、本研究では、ペプチドホルモンと受容体間の構造解明を調べる上で、AI 技術の有用性を紹介したい。

2. 植物ペプチドが引き起こす細胞間シグナル伝達の機構

すべての生物の体内では、多数のタンパク質間で物理的な相互作用を行い、その結果、引き起こされる化学反応が常に生じている。その中で、なんらかの刺激に対して、連続して引き起こされるタンパク質相互作用網をシグナル伝達と呼ぶ。特に、多細胞生物においては、このシグナル伝達には、細胞間シグナル伝達と細胞内シグナル伝達がある（図1）。その細胞間のシグナル伝達は、各細胞の運命を決定づけるシステムであるため、多細胞生物の本質的な役割を果たす。

特に、動物と違って自ら移動することができない植物は、刻々と変化する外界の環境を常に察知する必要がある。その戦略として、植物は、環境刺激を全身に伝達するために、環境変化を受け取った細胞から、分

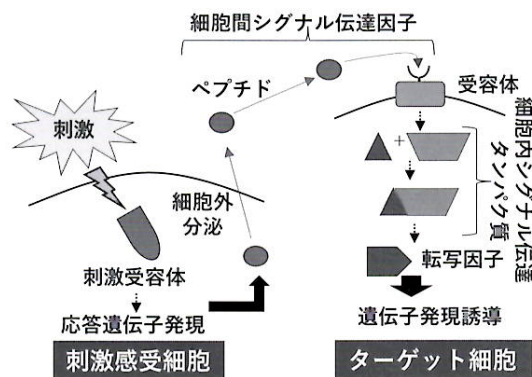


図1 多細胞でのシグナル伝達システム

^{*1} 九州工業大学
Kyushu Institute of Technology

^{*2} 理化学研究所
RIKEN

^{*3} 名古屋大学
Nagoya University

^{*4} 長浜バイオ大学
Nagahama Institute of Bio-Science and Technology

子シグナルを放出する。分子シグナルを受け取った植物細胞は、それぞれの組織で、環境変化へ適応するために形態的・形質的な変化（生理活性）を引き起こす。このシグナルを担う分子と、シグナル分子を受け取るタンパク質（受容体）間の相互作用の把握は、植物の最上位のシグナル伝達システムといえる。このように、シグナル分子とその受容体のメカニズムを理解することは、植物の生理現象を理解できるだけでなく、人為的に植物の生理活性をコントロールする実用研究にも繋がる。

植物には、細胞間シグナル伝達を担う様々なシグナル分子（低分子有機化合物、無機イオン、ペプチド、等）が存在するが、近年、100 アミノ酸残基以下の短い遺伝子にコードされる多種多様なペプチドが、細胞間シグナル伝達に関わっていることが明らかとなりつつある。これまで、細胞間シグナル伝達に関わるペプチドが見落とされてきた理由は、短い遺伝子は遺伝子として同定されていない上に、特にシグナル伝達に関わるものは発現の場所と量が極めて限定的であるため、発現のエラーとしてとらえられていたためである^{1,2)}。そのような中、多様な細胞外分泌ペプチドが、植物のモデル生物であるシロイヌナズナにおいて、細胞間伝達に関わるペプチドホルモンとして機能していることが明らかになった²⁾。今までの国内外の研究で、シロイヌナズナの既知の短い遺伝子から、22 種類の細胞間伝達に関わるペプチドホルモンとその受容体が報告されている³⁾。今まで見出されたペプチドホルモンが結合する受容体の同定は、古典的な生化学の方法で一つ一つ行われてきた。その後、ペプチドホルモン-受容体複合体の構造および、相互作用部位を決定する研究が行われてきた。

ペプチドホルモンは、多種多様な進化起源を持っており、多数の遺伝子ファミリーを構成する⁴⁾。一方で、ペプチドホルモンの受容体は、単一のタンパク質を進化起源に持つ傾向が強い。動物では、G タンパク質共役受容体が、植物では、Leucine-Rich Repeat (LRR) 型受容体キナーゼが、多様なペプチドホルモンを受容する機能を持つ（図 2）⁴⁾。G タンパク質共役受容体は、膜貫通の回数も多く複雑な構造であるため、培養細胞を用いても正常な機能を発揮できるタンパク質を合成することは困難である。一方で、植物の受容体である LRR 型受容体キナーゼは、膜貫通も一回のみであり、ペプチドを受容する LRR も類似した構造の繰り返しであるため、人工知能（AI）技術を利用した構造予測が比較的容易であると予測できる。

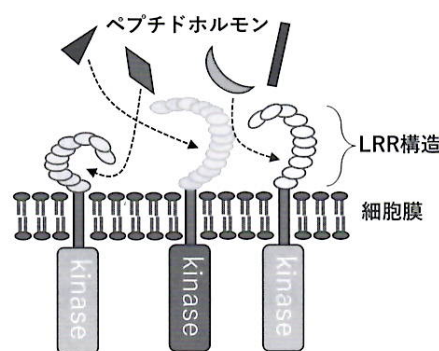


図 2 植物でのペプチドホルモンと LRR 型受容体キナーゼ間の細胞間シグナル伝達システム

3. In-silico の解析でタンパク質相互作用を予測

2000 年代に発達したゲノム解析、2010 年代に発達したトランスクリプトーム解析によって、各生物種がコードする全遺伝子を網羅的に同定することが可能になった。これらの遺伝子にコードされる全タンパク質間の in vivo の相互作用方法は、Yeast two-hybrid 法により実験で調べられている。しかし、Yeast two-hybrid 法は原理的に、細胞の外で相互作用が起きている細胞間シグナル伝達を調べることは困難である。さらに、Yeast two-hybrid 法では、相互作用するタンパク質を同定できても、相互作用するタンパク質の部位を同定することができない。

そのため、相互作用部位の同定には、1950 年代にタンパク質に対して使われ始めた X 線結晶構造解析が利用されてきた。X 線による構造解析は、タンパク質の大量発現・精製調製 → 結晶化 → データ収集 → 構造決定というステップがある。この方法を利用し、12 種類のペプチドホルモンと LRR 型受容体の複合体構造が決定された。2010 年代に入ると、結晶化というステップが不必要なクライオ電子顕微鏡による単粒子解析の技術が進歩し、結晶化が困難なタンパク質の構造解析が飛躍的に進んだ。さらに、2020 年代に入り、構造解析の大きなブレイクスルーが起こっている。それは、AI 技術を用いたタンパク質の構造予測である。AI 技術を駆使してこれまでに大量に蓄積された立体構造データ、および、アミノ酸配列データを学習することで、アミノ酸配列の情報のみからタンパク質の三次元の構造を高精度に予測することが可能になった⁵⁾。AI 技術で予測された立体構造を利用すると、In-silico の解析でタンパク質間相互作用する部位を原子レベルで推測することを期待できる。そして、この技術を利用すると、今まで困難であった細胞間シグナル伝達に関わる相互

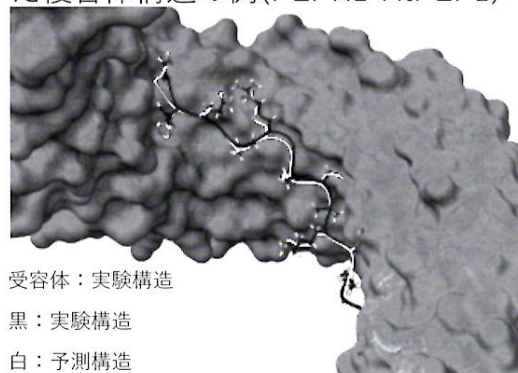
作用部位を把握できる可能性がある⁶⁾。特に、植物では、細胞間シグナル伝達を担うペプチドホルモンを受容する受容体は、Leucine-Rich Repeat という類似した構造の繰り返しを共通に持つことから、AI 技術を利用した構造予測が比較的容易である可能性がある。このように、現在蓄積している立体構造データを利用すると、ペプチドホルモンが結合する受容体を予測できるだけでなく、相互作用部位を原子レベルで把握できる可能性がある。

4. AI 技術で相互作用を予想できるか？

AI 技術を用いた構造予測法である AlphaFold2 は、もともとはタンパク質単量体の構造予測を対象としていた⁵⁾が、AlphaFold2 が公表されてすぐにタンパク質複合体の構造予測（ドッキングシミュレーション）が可能で AlphaFold-multimer に拡張された⁷⁾。そこで、複合体構造が X 線結晶構造解析により解明されている 12 種類のペプチド-受容体ペアについて AlphaFold-multimer によるドッキングシミュレーションを行い、ペプチドや受容体それぞれの立体構造の予測精度、および、複合体構造の予測精度の評価を行った（図 3）。その結果、実験構造と予測構造のずれはほとんどなく、ペプチドと受容体の相互作用が明らかにされているものは、精度が高い相互作用部位を推定できることが明らかとなった。

次に、生体内で物理的な結合をし、その物理的な結合によって生理活性を引き起こすペプチドと受容体の組み合わせを、AI 技術を利用して推測できるかを調べた。まず、生理活性を引き起こすことが実験的に示されている LRR 受容体 16 種類と、ペプチド 14 種類のアミノ酸配列を集め、それらのすべての組み合わせ（16 ×

AlphaFold-multimerにより予測された複合体構造の例(PEPR1-AtPEP1)



12複合体の実験構造と予測構造のずれ

	RMSD (平均±標準誤差)
受容体	1.45 ± 0.13 Å
ペプチド	2.16 ± 0.40 Å

図 3 AlphaFold-multimer によるドッキングシミュレーションの結果

14 = 224 通り)の複合体構造を AlphaFold-multimer で予測した。さらに、構築された複合体が信頼に足る複合体であるかを、Elofsson のグループが開発した pDockQ スコア⁸⁾を用いて評価した。生理活性を促すペプチド-受容体のペアであることが知られている 16 ペアについて、pDockQ スコアが信頼に足る複体の基準 (0.5) より大きいかを調べたところ、6 ペアが基準より大きく、真陽性率は 37.5% であった（表 1）。一方で、結合しないと考える 208 ペアでは、3 ペアのみが基準以上であり、偽陽性率は 1.4% であった。これらの結果は、信頼に足る複合体構造を持つものの多くは、実際に

表 1 生理活性を促す 16 ペアのペプチド-受容体の複合体構造の評価

ペプチド		受容体		評価
Symbol	ID	Symbol	ID	pDockQ
CIF1	AT2G16385	GSO1/SGN3	AT4G20140	●0.635
RGF1	AT5G60810	RGFR1	AT3G24240	●0.538
PSK1	AT1G13590	PSKR1	AT2G02220	●0.173
PSY1	AT5G58650	PSY1R	AT1G72300	●0.292
CLV3	AT2G27250	CLV1	AT1G75820	●0.26
CLV3	AT2G27250	BAM1	AT5G65700	●0.219
CLV3	AT2G27250	CLV2	AT1G65380	●0.231
CEP1	AT1G47485	XIP1/CEPR1	AT5G49660	●0.252
IDA	AT1G68765	HAESA (HAE)	AT4G28490	●0.59
PIP1	AT4G28460	RLK7	AT1G09970	●0.232
TDIF	AT3G24770	TDR/PXY	AT5G61480	●0.454
TPD1	AT4G24972	EMS1/EXS	AT5G07280	●0.644
LURE1.1	AT5G43285	PRK6	AT5G20690	●0.421
RALF1	AT1G02900	FERONIA	AT3G51550	●0.294
EPF1	AT2G20875	ER	AT2G26330	●0.535
ATPEP1	AT5G64900	PEPR1	AT1G73080	●0.588

相互作用をする割合が高いことを示している。一方で、相互作用するペプチド-受容体ペアをより高精度に推定するには更なる工夫が必要であると考えられた。

5. AI 技術で相互作用を強化できるか？

ペプチドと受容体の両方の構造を予測し、その複合体構造を予測する際には、どちらか一方の構造予測が異なると、その複合体構造を正確に予測することは困難になる。そこで、構造解析によって、受容体の構造が報告されている PEPR1 に着目した。PEPR1 に結合するペプチドホルモンは AtPEP1 であり、生体防御に関わるペプチドであるが、塩耐性を引き起こすことも明らかとなっている⁹⁾。そこで、AtPEP1 のペプチド配列を変化させ、PEPR1 とより結合親和性を強化し、内生 AtPEP1 よりも生理活性を強化する変異体 AtPEP1 のデザインを試みた (図 4)。

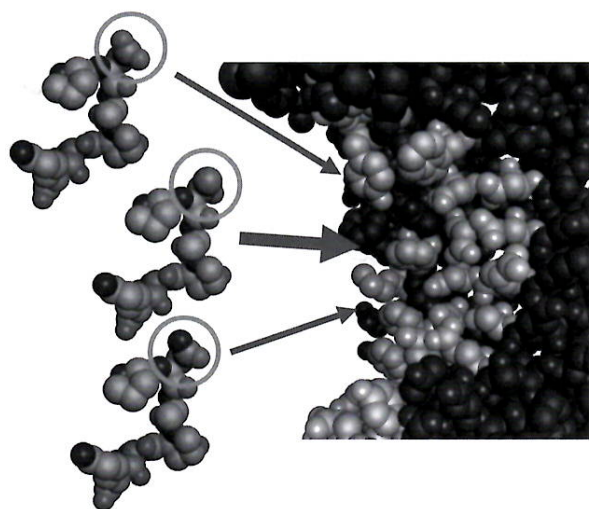


図 4 生理活性強化ペプチドのデザイン

まず、AtPEP1 と PEPR1 の複合体構造 (PDB ID: 5gr8) に基づいて、Molecular Operating Environment (MOE, Chemical Computing Group 社) を用いて物理化学的な指標により網羅的な 1 残基変異の結合親和性評価を行った。その結果、安定化すると予測された変異体 AtPEP1 と PEPR1 の複合体構造を MODELLER により予測し¹⁰⁾、PRODIGY により複合体構造に基づく結合親和性評価を行ったところ¹¹⁾、結合親和性が上昇すると推定された変異体ペプチドを 5 種類見出した。これらのペプチドを固相合成法で人工的に合成し、さらに PEPR1 はペプチドが結合する LRR 部分に His タグを融合したものを In-vitro Translation の方法で合成した¹²⁾。His タグを固層化し、マイクロスケール熱泳動の方法を利用して、人工的に合成した内生型 AtPEP1 と変異体型 AtPEP1 との相互作用を比較した (図 5)。その結果、G20I 変異体型において、結合が内生型よりも強化されていることが示唆された。その後、内生型 AtPEP1 と変異体型 AtPEP1 (G20I) を含んだ 150 mM の NaCl 下で、シロイヌナズナを生育させると、変異体型 AtPEP1 (G20I) を含んだ培地で、塩耐性が強化されていることが明らかとなった (図 5)。これらの結果は、AI 技術で相互作用を強化するペプチドをデザインでき、そのデザインしたペプチドは生理活性を強化することを示唆していた。

6. AI 技術の有用性と限界

本研究は、AI 技術を活用して植物ペプチド-受容体相互作用を予測・設計する試みを通じ、AI が構造生物学および分子相互作用解析において強力な補完的ツールとなり得ることを示した。特に、AlphaFold-multimer を用いた解析では、既知の複合体構造において実験構造と高い一致度を示し、AI 技術が原子レベルで相互作

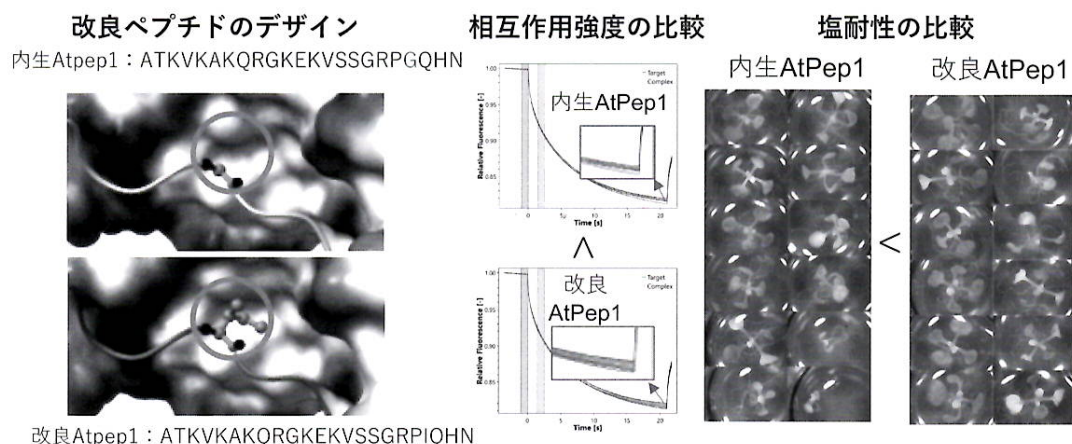


図 5 デザインされた生理活性強化ペプチド

用部位を推定できることを明らかにした。このことは、従来、結晶化や大量発現が困難であった膜タンパク質型受容体に対しても、構造予測を通じて分子間相互作用を理解できる可能性を示唆している。さらに、得られた構造情報を基盤にペプチド配列を再設計することで、実際に結合親和性および生理活性を強化できた点は、AI技術が機能改変・創薬・バイオデザインに応用可能であることを実証している。

一方で、AI技術には依然としていくつかの限界が存在する。まず、AlphaFold2や関連モデルは、既知の構造データに依存して学習しているため、未知の構造モチーフや進化的に新しい相互作用様式に対しては予測精度が低下する可能性がある。また、本研究でも示されたように、ペプチド-受容体間の相互作用の有無をAIのみで高精度に同定することは難しく、偽陽性率は低いものの、真陽性率も低い傾向を示した。これは、静的な構造予測のみでは、実際の生体内での動的な相互作用や膜環境、翻訳後修飾などを反映できないことが一因と考えられる。さらに、AIによる相互作用予測結果の信頼性は、入力となる配列情報の品質や構造テンプレートの有無に大きく依存しており、実験的な検証と併用することが不可欠である。

今後は、AIによる構造予測と実験的検証（X線結晶構造解析、クライオ電子顕微鏡解析、NMR解析など）を統合し、動的な分子相互作用ネットワークを再現する解析系の確立が重要になると考えられる。また、機械学習に基づくエネルギー関数の最適化や、分子動力学シミュレーションとの組み合わせにより、より精密な親和性評価や配列改変予測が可能になると期待される。AI技術は、従来の構造生物学を代替するものではなく、実験科学を加速する「探索エンジン」として位置づけることが重要である。AIと実験の融合によって、植物ペプチド-受容体相互作用の理解が飛躍的に進み、将来的には環境応答性の高い作物設計や、持続可能な農業技術への応用へと展開することが期待される。

参考文献

- 1) K. Hanada, M. Higuchi-Takeuchi, M. Okamoto, T. Yoshizumi, M. Shimizu, K. Nakaminami, R. Nishi, C. Ohashi, K. Iida, M. Tanaka *et al.*: Small open reading frames associated with morphogenesis are hidden in plant genomes, *Proc Natl Acad Sci U S A*, **110**, 2395/2400 (2013)
- 2) F. Takahashi, K. Hanada, T. Kondo and K. Shinozaki: Hormone-like peptides and small coding genes in plant stress signaling and development, *Curr Opin Plant Biol*, **51** (2019)
- 3) X. Li, L. Zhu, H. Wang, X. Zhou, M. Wang, L. Li, F. Liu, J. Sun and G. Xiao: Peptide Hormone-Mediated Regulation of Plant Development and Environmental Adaptability, *Advanced Science*, **12** (2025)
- 4) C. Furumizu and H. Shinohara: Land plant peptide signaling: What we know — and don't know — about its evolution, *Physiol Plant*, **176** (2024)
- 5) J. Jumper, R. Evans, A. Pritzel, T. Green, M. Figurnov, O. Ronneberger, K. Tunyasuvunakool, R. Bates, A. Židek, A. Potapenko *et al.*: Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold, *Nature*, **596**, 583/589 (2021)
- 6) J. Abramson, J. Adler, J. Dinger, R. Evans, T. Green, A. Pritzel, O. Ronneberger, L. Willmore, A. J. Ballard, J. Bambrick *et al.*: Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3, *Nature*, **630**, 493/500 (2024)
- 7) R. Evans, M. O'Neill, A. Pritzel, N. Antropova, A. Senior, T. Green, A. Židek, R. Bates, S. Blackwell, J. Yim *et al.*: Protein complex prediction with AlphaFold-Multimer, *bioRxiv* (2021)
- 8) K. Uziela, D. Menéndez Hurtado, N. Shu, B. Wallner and A. Elofsson: ProQ3D: improved model quality assessments using deep learning, *Bioinformatics*, **33**, 1578/1580 (2017)
- 9) K. Nakaminami, M. Okamoto, M. Higuchi-Takeuchi, T. Yoshizumi, Y. Yamaguchi, Y. Fukao, M. Shimizu, C. Ohashi, M. Tanaka, M. Matsui *et al.*: AtPep3 is a hormone-like peptide that plays a role in the salinity stress tolerance of plants, *Proc Natl Acad Sci U S A*, **115**, 5810/5815 (2018)
- 10) M. A. Martí-Renom, A. C. Stuart, A. Fiser, R. Sánchez, F. Melo and A. Šali: Comparative Protein Structure Modeling of Genes and Genomes, *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, **29**, 291/325 (2000)
- 11) L. C. Xue, J. P. Rodrigues, P. L. Kastriitis, A. M. Bonvin and A. Vangone: PRODIGY: a web server for predicting the binding affinity of protein-protein complexes, *Bioinformatics*, **32**, 3676/3678 (2016)
- 12) M. Nomoto and Y. Tada: Cell-Free Protein Synthesis of Plant Transcription Factors, *Methods Mol Biol*, **1830**, 337/349 (2018)