

蛋白質のNMR立体構造の精密化を行う際、実験データに含まれる蛋白質の運動性をどのように取り扱うかが重要な問題のひとつとなっている。我々は規準振動解析を基盤にした精密化の方法論の開発に向けての研究を行っており、今回、規準振動解析を用いてどのようにオーダーパラメータを計算すればよいのかを適用範囲とともに明確にしたのでその研究結果を報告する。

デカルト座標系の規準振動解析を用いると、各原子が規準振動変数に対して空間を直線的に動くような運動しか取り扱えず、例えば二面角の運動に対して直接化学結合した二原子間距離が変化するという歪んだ結果が生じるため、オーダーパラメータの計算式においても数学的に誤った表式を使うことを余儀なくされていた[1]。一方、内部座標系での解析法を用いると、原子の運動を歪まないように表すことができ[2]、オーダーパラメータの計算にも数学的に正しい表式を使うことが可能となる。これらを理論式に基づきオーダーパラメータの計算を行った結果、デカルト座標系の規準振動解析における表式は、直接化学結合したスピン対に対してのみ実用的な意味で適用できることがわかった。核間距離の変化するスピン対の場合には、どちらの表式を用いても二核をはさむ二面角変数の数が増大するに従って(二核を結ぶベクトルの運動が複雑になるに従って)数値計算値からの誤差が大きくなるが、内部座標系での方法では誤差の増大の仕方がゆるやかで、二面角数が十程度までであればかなりの精度でオーダーパラメータを見積れることを明らかにした[3]。

[1] E. Henry & A. Szabo; *J. Chem. Phys.* (1985) 82, 4753[2] S. Sunada & N. Go; *J. Comp. Chem.* (1995) 16, 328[3] S. Sunada, P. Koehl & N. Go; *J. Magn. Reson.* to be submitted

S. Sunada, N. Go : Calculation of NMR Order Parameters by Normal Mode Analysis

最近筆者は、独自の方法(PPP法)によって、タンパク質とそれを取り巻くすべての水分子の運動をクーロン力をカットオフせずに精密にシミュレートすることを可能にした(Mol. Simulation, vol. 8, p. 321(1992))。

われわれのシミュレーションが、本当にタンパク質の振る舞いをリアルに再現しているかどうかをチェックするために、アミノ酸置換に伴う自由エネルギー変化を計算し、変異タンパク質の熱安定性の自由エネルギーを求め実験値と比較した。その結果、前回報告したように計算値は実験値と良く一致した(Chem. Phys. Letters, vol. 236, p. 156(1995))

計算の手順を変えても計算結果がほとんど変わらないことから、この一致は偶然でないことが分かる。また、この計算には、計算結果を調節する任意パラメータは一切含まれていないため、計算結果を故意に実験結果に合わせることはできない。それでは、これらの計算例は、従来の方法でも正しい結果を求めることができるような簡単な問題だったのか?あるいは、従来のシミュレーションの方法は、どの程度の信頼性を持っているのか?これらの疑問に答えるために、熱安定性の自由エネルギーの計算を従来から行われている方法で行って比較した。

リアルでないシミュレーションからリアルなシミュレーションまで計算のレベルを変えて、V741変異体の熱安定性の自由エネルギー計算を行った。その結果、従来から行われているようなレベルのシミュレーションでは、信頼できる結果が得られないことが分かった。

計算のレベルを落としたことによって、どんな重要なファクターを取りこぼすことになるのか? また、そのようなファクターを明らかにすることによって、重要なファクターをうまく取り入れた簡便計算が可能か否かを検討する。

M. Saito, Reality and reliability of the simulations of proteins.

### A Reliable Sequence Alignment Method Based on Probabilities of Residue Correspondences.

Sanzo Miyazawa, Faculty of Technology  
Gunma University

Probabilities of all possible correspondences of residues in aligning two proteins are evaluated by assuming that the statistical weight of each alignment is proportional to the exponent of its total similarity score. Based on such probabilities, a probability alignment that includes the most probable correspondences is proposed. In the cases of highly similar sequence pairs, the probability alignments agree with the maximum similarity alignments that correspond to the alignments with the maximum similarity score. Significant correspondences in the probability alignments are those whose probabilities are larger than 0.5. The probability alignment method is applied to a few protein pairs, and results indicate that such highly probable correspondences in the probability alignments are often correct correspondences that agree with the structural alignments and that incorrect correspondences in the maximum similarity alignments are not usually significant correspondences in the probability alignments. The root mean square deviations in superposition of corresponding residues tend to be smaller for significant correspondences in the probability alignments than for all correspondences in the maximum similarity alignments, indicating that incorrect correspondences in the maximum similarity alignments tend to be insignificant correspondences in probability alignments. This fact is also confirmed in 109 protein pairs that are similar to each other by sequence identities between 90 and 35%. In addition, the probability alignment method may better predict correct correspondences than the maximum similarity alignment method. However, probability alignments do, of course, depend on a scoring scheme but less sensitive to the value of parameters such as gap penalties. The present probability alignment method is useful to construct reliable alignments based on the probabilities of correspondences and can be used with any scoring scheme.

宮澤 三造: 対合確率に基づく配列アライメント

### 球状蛋白質の静電的プロフィール I I

○中村春木、松尾 洋、西川 建(蛋白工学研)

前回、球状蛋白質中の各アミノ酸が存在する静電的環境を定量化するため、蛋白質中の全てのアミノ酸の各側鎖がそれぞれ解離電荷を持つとした時の静電エネルギーを、誘電体モデル近似を用いて算出する方法を提案した。今回、その手法を種々のフォールドを持つ球状蛋白質に適用したので、結果を報告する。

【方法】 all- $\alpha$ 型、all- $\beta$ 型、 $\alpha/\beta$ 型のそれぞれのフォールドを持つミオグロビン(1MBD)、抗体蛋白(2RHE)、トリオスリン酸イソメラーゼ(1TIM)、RAS蛋白質(5P21)に対して、それぞれ誘電体モデルを作成し、Poisson方程式を数値的に解いて、各アミノ酸残基が関与する静電エネルギーを算出した。PDBデータベース中の蛋白質で上記蛋白質と同一のフォールドを持つものに対し、立体構造でのアライメントを行ない、解離アミノ酸残基の静電的環境を評価した。この際、アミノ酸配列の相同性が低いもの同士の比較も行なえるように、アライメントが正しく行なえるものの中で、もとの蛋白質において二次構造上にあるアミノ酸残基のみを対象とした。また、松尾、西川が開発した3D-1Dアライメント法を用いて、立体構造が未知の配列に対しても、同一ファミリーと異種ファミリーの蛋白質に分けて静電的環境を評価した。

【結果】 アミノ酸配列上の相同性が低い同じフォールドを持ついわゆるスーパーフォールドの蛋白質に対しては、一般に解離アミノ酸残基の静電的環境は良好になる結果が得られた。また、アミノ酸配列の情報のみでアライメントを行なった場合には、同一のファミリーに属する蛋白質に対しては解離アミノ酸残基の静電的環境は良好であったが、異なるファミリーの蛋白質では不安定な静電的環境に存在する解離アミノ酸残基が出現することが観測できた。このことを利用して、3D-1D適合性の評価において、さらに静電的環境のフィルターをかけ、より評価の精度をあげることができた。

H. Nakamura, Y. Matsuo, K. Nishikawa : Electrostatic 3D profiles of globular proteins II.