The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ヌクレオチドのコンホメーションに関する統計解析法による研究
Author(s)	北村, 一泰
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33490
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【9】

氏名・(本籍)	北村一泰（きたむら かずひろ）
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 5848 号
学位授与の日付	昭和57年12月13日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**ヌクレオチドのコンホメーションに関する統計解析法による研究**
論文審査委員	(主査) 教授 冨田 研一 (副査) 教授 池原 森男　教授 佐々木喜男　教授 枡井雅一郎

論文内容の要旨

序　論

分子生物学の分野における最も興味ある問題の1つは核酸のコンホメーション変化の機構を明らかにすることであると思われる。その理由は，核酸のコンホメーション変化が生物学的機能（例えば複製，転写等）と密接に関係すると考えられるからである。それゆえに，今日まで，種々の物理・化学的手段（X一線結晶構造解析，NMR，CD等）を用いて，種々の物理化学的環境下での核酸およびその構成要素であるヌクレオチド，スクレオシドの構造についての研究が行なわれてきた。それら種々の研究手段の中で，分子構造の詳細を明らかにする点においては，X一線結晶構造解析が大きな役割を果してきた。たとえば，結晶構造が決定されたヌクレオチドおよびそれらの関連物質の数は 250以上であり，ポリヌクレオチドとしてはyeast $tRNA^{Phe}$の分子構造が決定されている（前者はCambridge Crystallographic Databaseに，後者はProtein Data Bankに原子座標が収録されている)。実際に構造が明らかにされたヌクレオチドとその関連物質はさまざまなコンホメーションを示している。さらにyeast $tRNA^{Phe}$の分子構造はポリヌクレオチド中でのヌクレオチドのさまざまなコンホメーションを示している。そこで，筆者はこれら核酸関連物質のコンホメーションを規定するねじれ角データを用いて統計解析を行ない，ねじれ角相互の関連性を明らかにし，ヌクレオチドおよび核酸の動的なコンホメーション変化の機構を知るうえにおいて重要な情報を得る目的で本研究を行なった。それから得られた知見によって将来，核酸の2次，3次構造の予測が可能になることが期待できるものと思われる。

ねじれ角は通常のユークリッド型変量ではなく円変量(Circular variate)である。このことは通常

の統計解析の各手法がねじれ角の解析には不適切であることを意味する。従って，筆者は上記の目的に沿ってねじれ角データを統計解析するための次の手法についてその適用性を検討した。

a) 円相関分析（円相関係数の定義）

b) 円回帰分析（円回帰式の推定）

c) コンホメーション間の類似性の数値表現

すなわち，a)はねじれ角間にどのくらい相関(Correlation)があるかを知るために必要であり，b)は相関の強いねじれ角の組がどのような直線（回帰直線; regression line)に沿って変動するかを知るために必要となる。またc)は種々のコンホメーションを定量的に分類(classification)するときに有用となる。なお，上記の3手法は核酸の場合のみならず，角度で測定されたデータの解析に一般的に適用できるものである。

筆者は，ヌクレオシド，ヌクレオチドおよびyeast tRNA^{Phe}中の各ヌクレオチド残基のねじれ角データを用いて上記の円相関・回帰分析を行い，ねじれ角間の動的関連性を求めると共に，ヌクレオチドおよび核酸ヘリックスのコンホメーション変化の機構を明らかにし，2重ラセンから1重ラセンへの分離(Strand separation)についての構造モデルを推定した。

本　論

第1章　解析方法

〔1〕概要

原子間結合まわりのねじれ角(torsion angle)は分子のコンホメーションを規定する変量である。例えば，モノヌクレオシドジホスフェートのコンホメーションは図1に示した10個のねじれ角によって

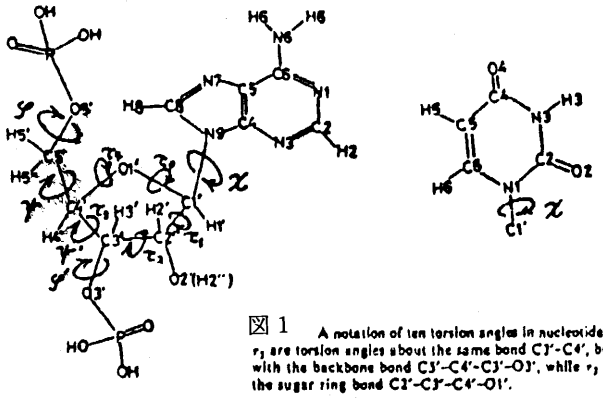


図1　A notation of ten torsion angles in nucleotide fragment. ψ' and τ_3 are torsion angles about the same bond C3'-C4', but ψ' is concerned with the backbone bond C3'-C4'-C3'-O3', while τ_3 is concerned with the sugar ring bond C2'-C3'-C4'-O1'.

完全に表現される。

ねじれ角は角度で表わされるので円周上に位置する観測点として定義することができる。つまり，ねじれ角は分子量や結合の長さのような直線上で定義される変量（ユークリッド型変量）とはその性質を異にする。ゆえに，角度データに通常の統計量（平均値，分散，相関係数等）を適用すると，i) 角度の原点の選び方および ii) 角度の定義範囲の選び方によって全く異なる結果が得られることになる。従って，ねじれ角データの解析に際しては，通常の場合とは異なる。すなわち上記 i)，ii) に依

存しない統計量を求める必要がある。この章では，角度データの基本統計量である平均方向(mean direction)と円分散(circular variance)の定義を記述すると共に序論で記したa), b), c)の3つの手法について述べる。

〔2〕平均方向(mean direction)と円分散(circular variance)

今，単位円周上のk番目の点P_kの位置を単位ベクトル$e^{i\theta_k}$で表わすことにする（図2）。このとき，円周上のn個の観測点の平均方向$\bar{\theta}$は，

$$\frac{1}{n}\sum_{k=1}^{n} e^{i\theta_k} = \bar{\omega} e^{i\bar{\theta}} \qquad \cdots\cdots(1)$$

で一義的に定義できる。右辺は平均ベクトルを表わし，$\bar{\omega}$は平均ベクトルの長さである。ここで，

i) $\omega = 1$: 円周上のn個の観測点が同一点にかさなった時

ii) $\omega = 0$: n個の観測点が円周上でそれぞれn等分された点に位置する時，となるので，$\bar{\omega}$は円周上の観測点のバラツキに依存した量である。従って，$\bar{\omega}$の代りに

$$V_c = 1 - \bar{\omega}, \quad (0 \leqq V_c \leqq 1) \qquad \cdots(2)$$

をもって円分散(V_c)の定義式とすることができる。なお，$\bar{\theta}$, $\bar{\omega}$は次の(3), (4), (5)式より容易に求められる。

$$\left.\begin{aligned} \bar{\alpha} &= \frac{1}{n}\sum_k \cos\theta_k = \bar{\omega}\cos\bar{\theta} \\ \bar{\beta} &= \frac{1}{n}\sum_k \sin\theta_k = \bar{\omega}\sin\bar{\theta} \end{aligned}\right\} \qquad \cdots(3)$$

$$\bar{\theta} = \tan^{-1}(\bar{\beta}/\bar{\alpha}) \quad \cdots(4), \qquad \omega = \sqrt{\bar{\alpha}^2 + \bar{\beta}^2} \qquad \cdots(5)$$

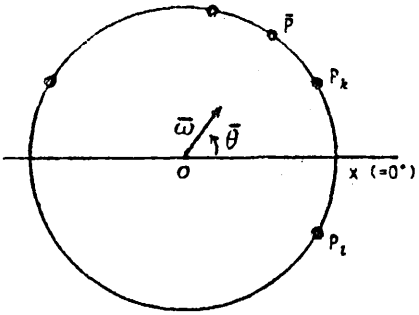


図 2

次に，平均方向のまわりの円分散$V_c(\theta)$を求める。(3), (5)式から，

$$\sum \cos(\theta_k - \bar{\theta}) = n\bar{\omega} \quad \cdots(6), \qquad \sum_k \sin(\theta_k - \bar{\theta}) = 0 \qquad \cdots(7)$$

なので，(6)を(2)に代入すると，$V_c(\bar{\theta})$は

$$\begin{aligned} V_c(\bar{\theta}) &= 1 - \frac{1}{n}\sum_k \cos(\theta_k - \bar{\theta}) \\ &= \frac{1}{n}\sum_k \{1 - \cos(\theta_k - \bar{\theta})\} \end{aligned} \qquad \cdots(8)$$

で与えられる。なお，上式中の$1 - \cos(\theta_k - \bar{\theta})$ …(9)は図2のPとP_k間の平方距離（弦の長さの2乗）の半分に対応する。

〔3〕円相関分析(circular correlation analysis)

2つの角度(θ, ϕ)間の直線的関係の程度を表わす尺度として円相関係数(circular correlation coefficient)を求める。

まず，θ, ϕ間の円共分散(circular covariance)を次式で定義する。

$$V_c(\theta, \phi) = \frac{1}{n}\sum_k \sin\theta_k^* \sin\phi_k^* \qquad \cdots(10)$$

ここで，$\theta_k^* = \theta_k - \bar{\theta}$, $\phi_k^* = \phi_k - \bar{\phi}$であり，$\bar{\theta}$, $\bar{\phi}$は角度θ, ϕの平均方向である。従って，円相関係数

$r_c(\theta, \phi)$は次式で定義される。

$$r_c(\theta,\phi) = \frac{\sum_k \sin\theta_k^* \sin\phi_k^*}{\sqrt{\sum_k \sin^2\theta_k^* \sum_k \sin^2\phi_k^*}}, \ |r_c(\theta,\phi)| \leqq 1 \qquad \cdots(11)$$

なお，θ_k^*, ϕ_k^*が小さな値（平均方向のまわりの偏差が小さい）をとるとき，$\sin\theta_k^* \simeq \theta_k^*$, $\sin\phi_k^* \simeq \phi_k^*$とおけるので，$r_c(\theta, \phi)$は通常の相関係数

$$r(x, y) = \frac{\sum_k x_k y_k}{\sqrt{\sum_k x_k^2 \sum_k y_k^2}}$$

と一致することになる。

〔4〕円回帰分析(Circular regression onalysis)

2つの角度(θ, ϕ)の回帰直線(regression line)の推定について述べる。これはϕ_kの推定値がθ_kの1次式$\tilde{\phi}_k = \hat{a} + \hat{b}_c \theta_k (k=1, \cdots, n)$で与えられるものと仮定したとき，$\hat{a}, \hat{b}_c$をn組の$(\theta_k, \phi_k)$から推定することであるから，最小2乗法の考え方を用いて，円分散

$$V_c(\hat{\phi}, \phi) = 1 - \frac{1}{n}\sum_k \cos(\phi_k - \tilde{\phi}_k)$$
$$= 1 - \frac{1}{n}\sum_k \cos(\phi_k - \hat{a} - \hat{b}_c\theta_k) \qquad \cdots(12)$$

を最小にする$\hat{a}, \hat{b}$を求めればよいことになる[1]。

〔5〕円相関・回帰分析の検討

上記の円相関係数の定義および円回帰直線の推定の方法が，実際に妥当であるか否かを調べたのが図3である。図3(a)は通常の2変量正規分布$N(0, 0, 50^2, 50^2, 0.9)$から100個の点をプロットしたものである。図3(b)と(c)は(a)と同じ分布をそれぞれ角度の定義域〔$-180°, 180°$〕,〔$0°, 360°$〕に移動動させたものである。表1に示したように通常の相関係数(r)は各場合とも異なるが，円相関係数はいいづれの場合も$r_c = 0.579$で一定である。さらに，図3において，実線は円回帰直線を，破線は通常の回帰直線を示しているが，表1の$\hat{b}_c$からも明らかなように円回帰直線の傾きはほとんど変らない。

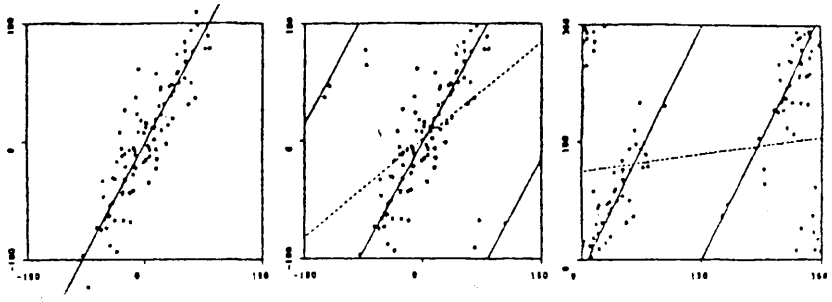


図3．Simulation diagrams for comparison between the circular and the linear cases, Circular and linear regression lines are shown by the solid lines and the broken lines, respectively.

表1　Correlation coefficient (r_c or r) and gradient (b_c or b) for circular and linear cases

Defined domain	Circular case		Linear case	
	r_c	$\hat{b}_c$	r	$\hat{b}$
(a) ($-\infty$, ∞)	0.579	1.86	0.913	1.85
(b) [-180°, 180°]	0.579	1.86	0.490	0.84
(c) [0°, 360°]	0.579	2.09	0.353	0.29

〔6〕コンホメーション間の類似性の数値表現

元来，分類は個体間の類似性をもとにして行なわれるべきものである。ここでは，例えば，図1のモノヌクレオシドジホスフェートの場合にもみられるように，多くの角度で表現されたコンホメーション間の類似性を教値表現することを考える。そこで，p個の角度をもつkというコンホメーションとlというコンホメーションの類似性(D_{kl})を，(9)式が2点間の平方距離の半分を表わすことから，

$$D_{kl} = \sum_{t=1}^{p} \{ 1-\cos({}_t\theta_k - {}_t\theta_l) \} \qquad \cdots(13)$$

$$(k \neq l\ ;\ k, l = 1, \cdots, n)$$

で定義した。ここで，$0 \leqq D_{kl} \leqq p$であり，$D_{kl} \to 0$ほど類似性が大きいことを意味する。そして，分分類は行列$\{D_{kl}\}$にクラスター分析[2]を適用することによって行なわれる。

第2章　ヌクレオチド骨格のコンホメーション変化

〔1〕概要とデータ

この章ではヌクレオチド骨格（図1）のコンホメーションを規定するねじれ角間の相関関係について述べる。なお，ねじれ角の定義および記号はSundaralingam[3]に従った。円相関分析の結果，次の6組のねじれ角の間に強い相関が認められた。すなわち，χ-τ_0(or χ-τ_4)，τ_3-ψ', χ-ϕ, χ-ϕ', ψ'-ϕ'の6組である。そして，それぞれの組のねじれ角間は表3の回帰式で示すように連動(link-movgment)している。

本解析に用いられたねじれ角のデータは総数127個のヌクレオチド，ヌクレオシドおよびそれらの関連化合物の結晶構造の原子座標から計算した。

〔2〕解析結果と考察

2-1.　χ-τ_0（またはχ-τ_0）間の連動

これらのねじれ角は，糖5員環のコンホメーションとそれに対する塩基の配向との相関関係を知る上で重要である。まず，χの分布を調べてみると図4に示されているように2つの集団に分れている

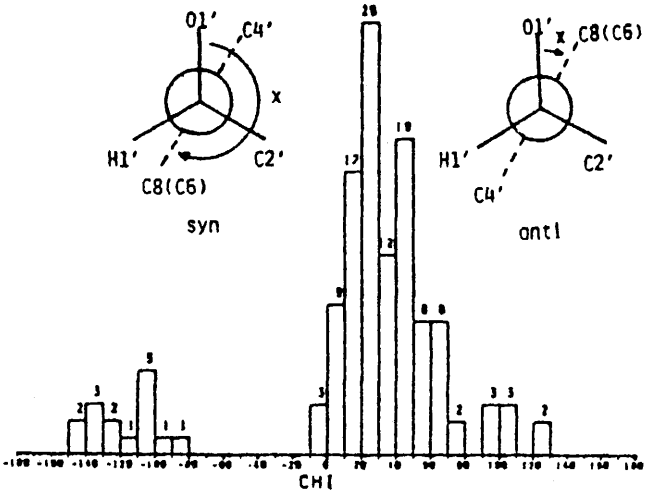


図4． A hisiogram of χ values at intervals of 10°

(bimodal distribution)。右側の集団はanti conformationをとるもの，左側の集団はsyn conformationをとるものに対応する。

各集団に属する結晶構造の数は112個(anti)と15個(syn)である。一般に,ピリミジンヌクレオシド（ヌクレオチド）は立体障害のためにsyn conformationはとり得ない。また，プリンヌクレオシド（ヌクレオチド）においても特殊な条件下，例えばプリン環のH8原子(図1)をかさ高い基（臭素やメチル基）で置換する場合以外は通常anti conformationをとる。従って，ここではanti conformationに属するものについて解析することにした。一方，糖5員環のねじれ角(τ_0, τ_1, τ_2, τ_3, τ_4)の分布については，τ_1, τ_2, τ_3はbimodal distributionを示すが，τ_0とτ_4の分布は連続的である。また，糖5員環の各ねじれ角の間はAltonaとSundaralingamによって提案された糖5員環のコンホメーションを表わす式（ねじれ角間の位相差から糖5員環のコンホメーションを表現する）によって一義的に関係づけられる。

以上の理由から，糖5員環のねじれ角としてτ_0またはτ_4をとり上げた。円相関分析の結果は表2にまとめてある。

表2． Circular correlation coefficients for x-τ_0 and x-τ_4

Nucleoside group	N[a]	Circular correlation coefficients	
		X - τ_0	X - τ_4
Anti	112	-0.678	-0.303
Pyrimidine	63	-0.768	-0.400
Purine	49	-0.683	-0.380
Adenine	26	-0.822	-0.309
Guanine	16	-0.677	-0.787
Syn	15	0.509	0.510

[a] Numbers of the used compounds.

塩基がピリミジンおよびアデニンの場合はχ-τ_0間に，グアニンの場合はχ-τ_4間に強い負の相関が認められる。従って，χとτ_0（またはχとτ_4）は強く連動していることが示唆される。そして，これらの組のねじれ角は表3に示した回帰式に従った動き（平均的）をしていることが図5(a),(b),(c)によっても定性的に理解することができる。

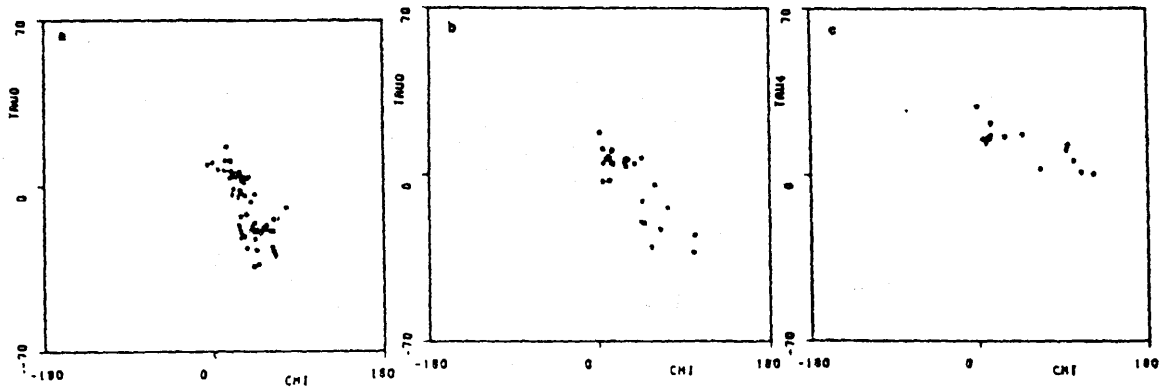


図5．Scattering diagrams for χ and the sugar ring torsion angles (a) a χ-τ_0 map for 63 pyrimidine nucleosides. (b) a χ-τ_0 map for 26 adenine nucleosides, and (c) a χ-τ_4 map for 16 guanine nucleosides.

回帰式が示すχ-τ_0（またはχ-τ_4）の関係は，塩基と主鎖および糖の各原子間にshort contactが生じないように連動して動く様子を表わしているものと推定される。なお，χの値と糖のコンホメーションとの間には，おおよそ次の平衡関係が成立する。

$$^3\mathrm{E} \underset{\chi\text{の減少}}{\overset{\chi\text{の増加}}{\rightleftarrows}} {}^2\mathrm{E} \qquad \cdots(14)$$

ここで，^{3}E, ^{2}Eはそれぞれ糖の安定なコンホメーションであるC3′ endo pucker およびC2′ endo pucker を表わす[4]（図6）。

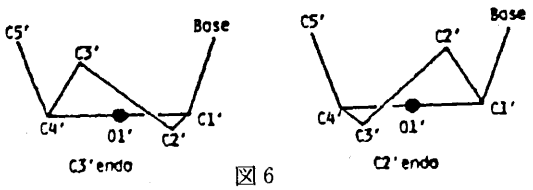


図6

2-2. τ_3-ψ'（またはτ_3-ψ）間の連動

これらのねじれ角は，糖5員環のコンホメーションと主鎖のコンホメーションとの相関関係を知る上で重要である。

τ_3-ψ'の円相関係数$r_c(\tau_3, \psi')=0.995$はτ_3-ψ'の関係がほぼ完全に直線的であることを意味するが，図7にその散布図を示す。このことは，τ_3とψ'が同じ結合C3′－C4′まわりのねじれ角であることからも理解される。

一方，ψはτ_3だけでなく他のどのねじれ角とも大きな相関を示さなかった。ψの分布は3つの集団に分かれ(trimodal distribution)，3集団の領域はそれぞれ35°－75°(gg conformation, 96個)，165°－195°(gt, 24個)および280°－295°(tg, 7個)である。

2-3. χ－ϕ間の連動

χ－ϕの関係は塩基と主鎖の5′側との相互作用，例えばdrug-dinucleotide intercalation complex形成機構を理解する上で極めて重要である。χ-ϕの相関関係は5′-ヌクレオチドの結晶構造データから得られるが，解析に用いた数は35個である。円相関係数$r_c(x, \phi)=0.861$からχとϕ間には連動性のあることがわかる。しかし，xとϕは隣接のねじれ角ではなく(図1)，それらの間にはψがあり，従ってχ-ϕは空間的に連動するものといえる。なお，35個の5′－タクレコチドの結晶構造をみるとすべてψはgauche-gauche(gg) comformationに制限されており他のねじれ角と相関はない。

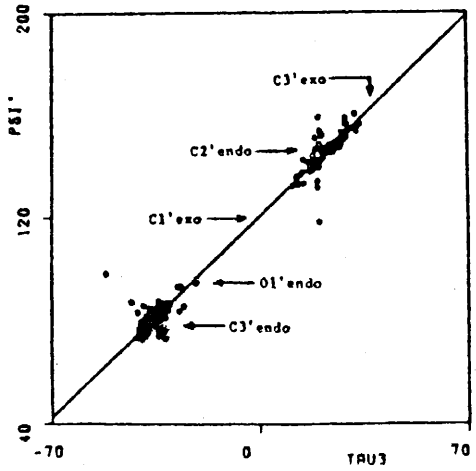
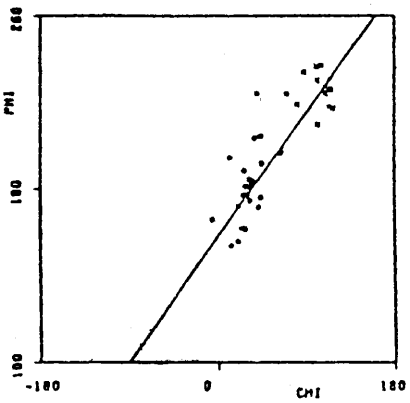


図7 A r_3-ψ map for 127 nucleotides and nucleotides. The open circles are markedly distributed in two regions. Those at the upper right correspond to the C2′ endo group and those at the lower left correspond to the C3′ endo group.

χ-ϕの連動の様式は，また，drug-dinucleotide intercalation complexの形成機構をも説明しうる。図8において，×印で示したものはdrug-dinuclestide intercalation complexのχ-ϕの値を示すが，これらの×印は回帰直線（実線）の右上部分に位置しており，intercalation complexの形成にはxとϕの同時増加が必要であることを示している。この同時増加はdinucleotideの塩基面をほぼ平行に保ったままその距離を通常の約3.5Åから増加させ，約2倍の6.8～7.2Åになったとき，drugが塩基間に完全に挿入(intercalate)され，complex全体のコンホメーションが塩基－ドラッグ－塩基間の stacking interactionによって安定化されるものと推測される。このことは，Bermanら[5]の分子モデルの検討から得られた知見と一致する。



Scattering diagrams of a χ-ϕ for 35 5′-nucleotides. The (χ,ϕ) values for drug-dinucleotide intercalation complexes are marked by(×).

図8

2-4. ϕ'-x間およびϕ'-ψ'間の連動

これらのねじれ角間の解析には20個の3′-ヌクレオチドの結晶構造から得られたデータを用いた。円相関係数はそれぞれ$r_c(\phi', x)=0.785$ …(15)，$r_c(\phi', \psi')=0.892$ …(16)であり，各組のねじれ角間には連動性があることが示唆される。(15)はχの変化と主鎖の3′－側のコンホメーション変化との関連を

与えるが，2-4節で述べたx- ϕの場合と異なり（空間的連動ではなく）むしろ糖5員環のコンホメーションに規定された連動であると考えられる。その理由は，i）⒃が糖のコンホメーションと主鎖の3′側のコンホメーションとの間の連動を示しており，ii）2-1節で述べたように，χと糖のコンホメーション（τ_0またはτ_4）も連動しているからである。なお，⒃によって示された関係はNMRによる結果[6]とよく一致する。

2-5 結 論

本章においては，ヌクレオチド，ヌクレオシドおよびそれらの関連物質の結晶構造から得られたねじれ角のデータを用いて円相関・回帰分析を行うことによって，これら分子のコンホメーション変化に必要なねじれ角間の動的な相関関係を導き出すことができた。その結果は，表3にまとめてある。

一般に，ヌクレオチド骨格の構造はConformationally rigid[8]であるといわれている。これはヌクレオチド骨格のコンホメーションを規定するねじ角（図1）の分散が個々のねじれ角についてみた場合比較的小さいからである。しかしながら，すでに述べたように，ψを除く他のねじれ角間には規則的な連動があり，その連動の総合としてヌクレオチドのコンホメーション変化が生じるものと考えることができる。従って，ヌクレオチド骨格の構造はむしろconformationally concertedであると考えた方が妥当である。

表3．Results of circular correlation and regression analysis

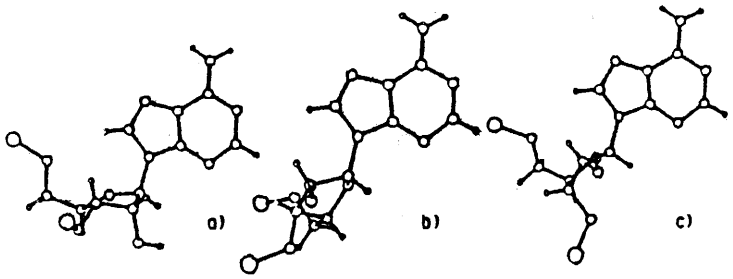
$\tau_3 \leftrightarrow \psi'$	(All structures, [a]N =127, [b]r_C=0.995)	
	$\psi' = 121° + 1.11\ \tau_3$	[c]D_C= 3.6°
	$\tau_3 = -107° + 0.89\ \psi'$	D_C= 3.6°
$\chi \leftrightarrow \tau_0$	(Pyrimidine nucleoside group, N=63, r_C=-0.768)	
	$\tau_0 = 13° - 0.65\ \chi$	D_C= 8.9°
	$\chi = 26° - 0.89\ \tau_0$	D_C=10.3°
$\chi \leftrightarrow \tau_0$	(Adenine nucleoside group, N=26, r_C=-0.822)	
	$\tau_0 = 11° - 0.42\ \chi$	D_C= 8.1°
	$\chi = 29° - 1.61\ \tau_0$	D_C=16.0°
$\chi \leftrightarrow \tau_4$	(Guanine nucleoside group, N=16, r_C=-0.787)	
	$\tau_4 = 19° - 0.14\ \chi$	D_C= 4.4°
	$\chi = 107° - 4.61\ \tau_4$	D_C=26.0°
$\chi \leftrightarrow \phi$	(5'-Nucleotide group, N=35, r_C=0.861)	
	$\phi = 161° + 0.61\ \chi$	D_C=12.3°
	$\chi = -141° + 1.04\ \phi$	D_C=17.4°
$\phi' \leftrightarrow \chi$	(3'-Nucleotide group, N=20, r_C=0.785)	
	$\chi = -90° + 0.48\ \phi'$	D_C= 9.6°
	$\phi' = 208° + 1.10\ \chi$	D_C=14.8°
$\psi' \leftrightarrow \phi'$	(3'-Nucleotide group, N=20, r_C=0.892)	
	$\phi' = 169° + 0.61\ \psi'$	D_C= 9.6°
	$\psi' = -203° + 1.33\ \phi'$	D_C=14.1°

[a]Numbers of the used crystal structures. [b]Circular correlation coefficients. [c]Circular deviations.[7]

図9には，表3に示した各ねじれ角についての回帰式の組合せによって得られたヌクレチオド骨格の

コンホメーション変化の様子を示している。なお，図中のそれぞれのアデニン環は同一方向に固定されている。

図 9



Sugar pucker	Torsion angle(°)			
	χ	φ	φ′	φ′
a) C3′ endo	29.0	179.9	76.7	215.8
b) O1′ endo	93.3	221.7	93.6	226.1
c) C2′ endo	68.7	205.7	148.4	259.5

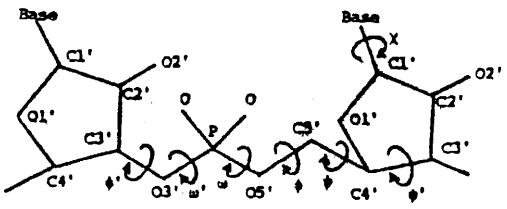
第3章　核酸のコンホメーション変化

〔1〕概要とデータ

核酸のラセン構造の形成に関与する要因の1つとして隣接塩基間のstacking interactionをあげることができる。この章では，糖―リン酸骨格（主鎖）のコンホメーション変化と隣接塩基間のstacking様式の変化との相関関係について考察する。さらに，それらの間の動的な相関関係に基づいて2重ラセンから1重ラセンへの分離すなわちstrand separation機構についてのモデルを初めて提唱する。

主鎖のコンホメーションま，基本的に図10に示した6個のねじれ角（ϕ', ω', ω, ϕ, ψ, ψ'）によってきまる。本解析に用いられたねじれ角データはyeast tRNA^{Phe}[9]の結晶構造の中で，隣接する5′-側塩基とstackした残基（49個）から得られた。残基番号は2-7, 11, 15, 23-31, 33, 35-36, 39-45, 50-53, 55, 57, 62-68, 70-75である。これらの残基のねじれ角データに対して円相関・回帰分析を行い，ω-ϕ, ϕ-ϕ', ϕ'-ω', ω-ψ間に直線的な連動性のあることが見い出された。これら4組の組合せによって主鎖のコンホメーション変化には5通りの径路が考えられるが，それらの中の1組（$\psi \leftarrow \omega \rightarrow \phi \rightarrow \phi' \rightarrow \omega'$）が核酸ラセン構造の局所的な運動を説明しうることを発見した。

図10



〔2〕核酸ラセン構造のコンホメーション変化の径路

表4に示したように円相関係数の値から，ω-ϕ, ϕ-ϕ', ϕ'-ω', ω-ψには連動性があり，これは主鎖の6個のねじれ角のうちψ'を除く残りの5個の

ねじれ角がお互いに直接あるいは間接的に連動していることを意味する。ψ' が他のねじれ角と連動しないのは，49残基中48個までがC3′ endo pucker であって ψ' が約79° に制限されているためである。なお，χ もその値が約14° 付近に制限されていたために他のねじれ角とは相関がなかった。表4 に示

表4．Circular correlation coefficients and regression lines between backbone torsion angles

Paired Torsions	Correlation Coefficient	Regression Line	Deviation	N[a]
$\omega - \phi$	-0.712	$\phi = 31° - 0.76\ \omega$	22°	49
$\phi - \phi'$	-0.700	$\phi' = -49° - 0.57\ \phi$	20°	47[b]
$\phi' - \omega'$	-0.691	$\omega' = 28° - 0.48\ \phi$	15°	46[c]
$\omega - \psi$	-0.653	$\psi = 177° - 0.39\ \omega$	14°	47[d]

In circular regression lines $y = a° + b_c x$, the angular domains of x and y are [0°,360°] and [-180°,180°], respectively.
[a]Numbers of the residues used calculations. [b]Residues A31,G57 were excluded from calculations. [c]Residues M2G26,U68,A73 were excluded. [d]Residues G24,G30 were excluded.

した4組の回帰式の組合せによって核酸のジヌクレオチド単位(図10)の可能な分子モデルを作ることができる。分子モデルの作成に際きては，adenylyl-3′, 5′-adenosine(ApA)を用い，ψ' は79°(C3′ e endo pucker)に，χ は14°(anti)に固定した。また，結合角，結合の長さはRNA-11[10]のものを用いている。

ねじれ角の径路(torsional pathway) $\psi \leftarrow \omega \leftrightarrow \phi \rightarrow \phi' \rightarrow \omega'$ について実際に ω を190°から360°まで変化させたとき，図11のApAの例で示したように，一連の妥当なラセン構造をもつ分子モデルが得られた。これら分子モデルの妥当性は，i) ジヌクレオチド単位中の各原子間にはShort contactがみられないこと，ii) 右まきラセンでかつ隣接塩基間の距離が3.2Åから3.6Åの間にあること，および iii) 隣接塩基平面はほぼ平行であることから明らかである。従って，上記ねじれ角の径路 (torsional pathway)は核酸ラセン構造のコンホメーション変化の道筋(conformational pathway)を示したものとして興味深い。実際に，ねじれ角の径路における ω' の変動範囲は272°－307°(g^-領域)に制限されておりNMRの知見[6]と完全に一致する。さらに，図11の一連の分子モデルから次のことが明らかになった。すなわち，i) 従来のrigid model[8]では核酸のコンホメーション変化は主として ω', ω の2つのねじれ角にその原因を求めていたが，今回の統計解析の結果から核酸のラセン構造のコンホメーション変化は，5個のねじれ角の協奏的な動き(concerted movement)に基づくと考えられる。従って ii) 複雑にみえる核酸ラセン構造のコンホメーション変化の様子は ω の関数として簡単にかつ定量的に表わすことが可能である。

〔3〕隣接塩基の運動

5個の主鎖ねじれ角にConcerted movementを仮定することによって ω の連続的動きがラセン構造に与える影響を検討することができる。ω を190° から360° まで10° ごとに変化させて作成した分子モデルについて次の4つのラセンパラメータをvirtual bond method[11]を用いて計算した。i) ラセン

軸に沿った1残基当りの回転角(θ), ii) ラセン軸方向への1残基当りの移動距離(h), iii) ラセン半径(r), iv) 1周期当りに含まれる残基数(n). 図12には, ωに対する各パラメータ(nを除く)の変化すなわちラセン構造の変化が隣接塩基間距離と共に示されているが, 最も興味のある点は, ωとθがほぼ放物線的($\theta_{min}=34°$ at $\omega=280°$)関係にあることである(図12a)。このことは, θが34°から増加するとωは280°を中心に変化し, Levittのエネルギー計算[12](θ=34°に最小値を持つ)を参考にすれば, 主鎖のtorsional stressを増加させることになる。逆にθの34°までの減少はそのstressを開放させるものと考えられる。このとき, 隣接塩基は(ω, θ)曲線に沿って互いになめらかに振動(oscillation)する。さらに, (ω, θ)曲線はTinocoらによって提案されたOscillating dimer modcl[13]をも説明しうる。

次に, 図12においてWatson-Crick型の塩基対の形成可能な領域を主として分子モデルとラセン半径から検討した。その領域は$\omega \simeq 260°$から$\omega \simeq 290°$であり, (ω, θ)曲線の極小値付近に対応する。従って2重ラセンの形成によってtorsional stressは最小になるものと考えられる。

〔4〕 2重ラセンから1重ラセンへの分離の構造的機構

図12の各曲線は1本鎖ポリヌクレオチド(糖はC 3′endo pucker)のラセン構造(図13)を定義するがさらに重要なことは2重ラセンから1重ラセンへの分離(Strand separation)の過程を示唆している点にある。strand separationの機構は分子生物学の中でも最も興味ある問題の1つであるが, まだその構造的機構を提案した例はない。ここで, 提案する機構は, 模式的に図14に示したように, 次のi), ii)が同時に, かつ, くり返されることによって説明される。

i) 今, i番目の連結部でstrand separationが起

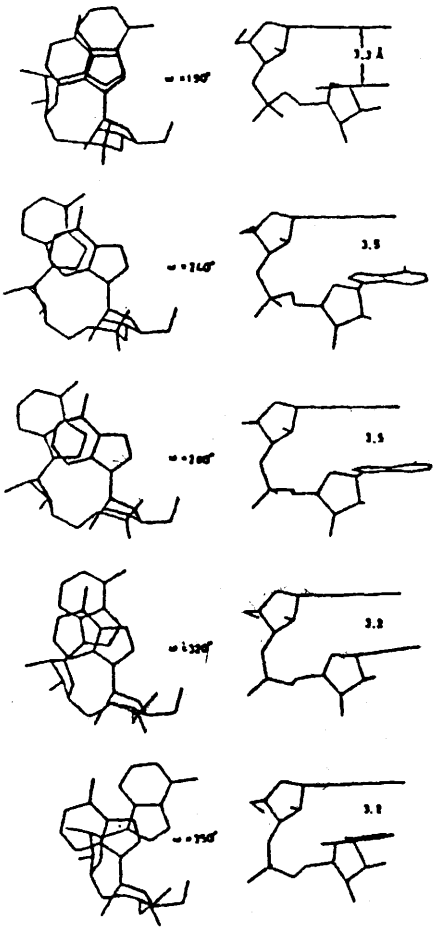


図11. Conformational patterns of ApA generated on the assumption of concerted movement of the five backbone torsions, ϕ', ω', ω, ϕ, and ψ. The patterns on the right are views parallel to the 5′-adenine base plane and the patterng on the left are views perpendicular to the 5′-adenine base plane. In all the left side figures, bases are drawn in heavy and light lines to indicate upper and lower bases, respectively, and to display oscillation of the 3′-adenine base(light line) with respect to the 5′-adenine base (heavy line).

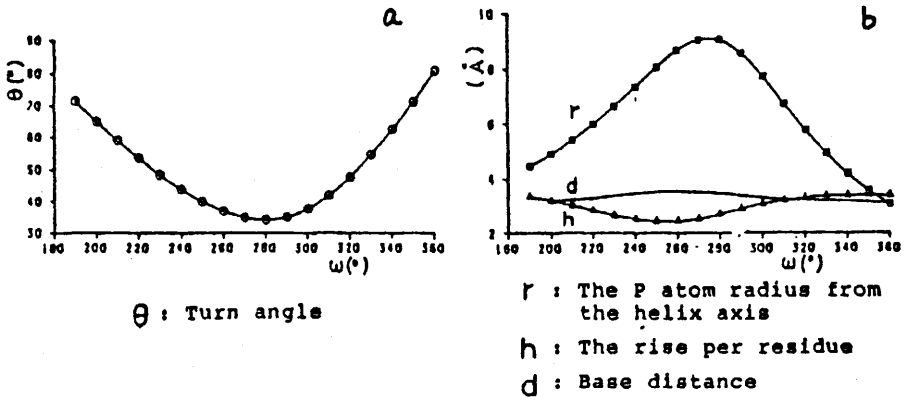


図12. Relationships of backbone torsion ω and helical parameters

るものとするならば，その連結部のコンホメーションが2重ラセン領域($\omega \simeq 280°$)から$\omega \simeq 200°$または$\omega \simeq 340°$へ変化する。このとき，それぞれの鎖のi番目の塩基は互いに逆方向に回転($\theta \simeq 34° \rightarrow 65°$，図11，図12)し，塩基対は破壊され，i番目の連結部で2本の鎖は局所的にねじれがきつくなりtorsional stressが生じる。

ii) このstressの開放はi番目の連結部を復元させるための巻きもどし(unwinding)と同時にi+1番目の連結部をi)と同様にひずませ，塩基対もまた同様に破壊し，i+1番目の連結部にtorsional stressを増加させる。このように，i)，ii)のコンホメーション変化はi番目の連結部のunwindigとi+1番目の連結部のwindingによって起るが，この機構がくり返されることによって，torsional stressは順次ラセンの鎖に沿って伝達される。そしてその伝達と共にstrand separationが順次起っていく。この機構の特徴は，分離したそれぞれの1本鎖は2重ラセンを形成しうるコンホメーションをとり，各1本鎖の大旋回を必要とせず，また各1本鎖に蛋白質が結合するならばtorsional stressはさらに伝達されやすくなる点にある。

ところで，ここで得られたstrand separationの構造的モデルはyeast tRNA^{Phe}のデータを基礎にし

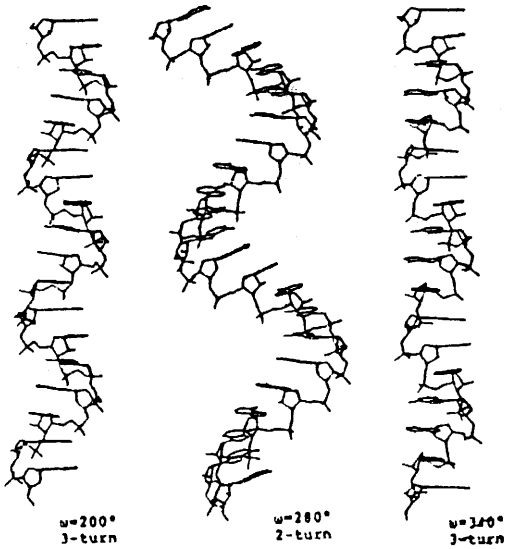


図13. Single stranded helices

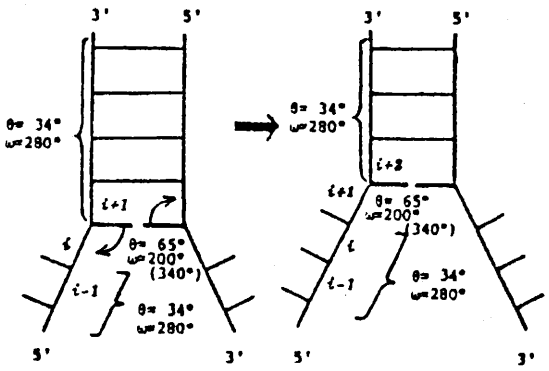


図14. The schematic diagram shows an intermediate stage of strand sepaation. The arrows indicate the direction of base-in base pair breakage caused by torsional stress on the ith backbone chain.

ているが，この機構が基本的にDNAにおいても成立するなば，DNA replicationの構造的機構を説明しうる可能性がある。

まとめ

1．角度データの分類および相関分析，回帰分析が可能となり，分子のコンホメーション解析に導入することができた。

2．円相関分析および円回帰分析を核酸構成成分（ヌクレオシド，ヌクレオチドおよびそれらの関連物質）のねじれ角データに適用し，ねじれ角間の関連性を明らかにした。

3．yeast $tRNA^{Phe}$のデータを用いて円相関分析および円回帰分析を行ない，i）核酸ラセン構造のコンホメーション変化はねじれ角（ϕ', ω', ω, ϕ, ψ）のconcerted movementを伴い，それによって隣接塩基は互いに振動する，ii）その振動の振幅が大きくなったとき，局所的に主鎖にtorsional stressが誘起され，それが順次伝達することによってstrand separationが起るというモデルを初めて提唱した。

引用文献

1）Gould, A. L., Biometrics, **25**, 683-700 (1969).

2）Everitt, B., in "Cluster Analysis", John Wiley & Sons, New York, p. 7-41 (1974).

3）Sundaralingam, M., Biopolymers, **7**, 821-860 (1969).

4）Altona, C. & Sundaralingam, M., J. Am. Chem. Soc., **94**, 8205-8212 (1972). (1972).

5）Berman, H. M., Neidle, S. & Stodola, P. K., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., **75**, 828-832 (1978).

6）Sarma, R. H., in "Nucleic Acid Geometry and Dynamics", Sarwa, R. H. (ed.), Pergamon Press, New York, p. 1-45 (1980).

7）Mardia, K. V., in "Statistics of Directional Data", Academic Press, London, p. 18-38 (1972).

8）Sundaralingam, M., in "Proceedings of the 5th Jerusalem Symposium Ouantum Chemistry and Biochemistry", Bergman, E. D., Pullman, B. (eds.), Academic Press, New York, p. 417-455 (1973).

9）Stout, C. D., Mizuno, H., Rao, S. T., Swaminathan, P., Rubin, J., Brennan, T. & Sundara ralingam, M., Acta Cryst., **B34**, 1529-1544 (1978).

10）Arnott, S., Dover, S. D. & Wonacott, A., Acta Cryst., **B25**, 2192-2206 (1969).

11）Olson, W. K., Biopolymers, **15**, 859-878 (1976).

12）Levitt, M., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., **75**, 640-644 (1978).

13）Davis, R. C. & Tinoco, I., Jr., Biopolymers, **6**, 223-242 (1968).

論文の審査結果の要旨

北村一泰君は，核酸およびその関連化合物のX線構造解析データに統計解析法を適用し，ヌクレオチドのコンホメーションを規定する7個のねじれ角間の相関，回帰についての分析から，ヌクレオチド骨格のねじれ角が協調的に変動し，もっとも安定な2本鎖ラセン構造がほどけてゆく機構についての新しいモデルを提唱した。

これらの業績は核酸構造化学，分子生物学の分野に寄与するところ大で，薬学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。