



Title	Accurate Determination of Protein Conformations by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and Distance Geometry and Analysis of Their Structural Features
Author(s)	中井, 孝尚
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39222">https://hdl.handle.net/11094/39222</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照ください</a> 。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	中 井 孝 尚
博士の専攻分野の名称	博 士 ( 理 学 )
学 位 記 番 号	第 1 1 5 4 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 1 0 月 5 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	Accurate Determination of Protein Conformations by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and Distance Geometry and Analysis of Their Structural Features (NMRとディスタンス・ジオメトリーによる蛋白質立体構造の決定法とその特徴)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 京 極 好 正 (副査) 教 授 山 口 兆      教 授 松 尾 隆 祐

### 論 文 内 容 の 要 旨

NMR から得られる距離情報をもとに蛋白質の立体構造を決定するディスタンス・ジオメトリー計算では、原子間距離情報に曖昧さを含み、しかも得られる距離情報が近距離の原子間に限定される NMR データの制約の故に、求める立体構造は与えた距離情報を満足する構造の集合として得られる。このため用いるアルゴリズムによって、得られる立体構造の精度や信頼性が大きく影響を受ける。理想的なディスタンス・ジオメトリー計算には、以下の条件が必要である。(1) 距離制限を満足するすべてのコンフォメーション空間から構造を偏りなくサンプリングできる (サンプリング問題)、(2) 距離制限を十分満たす構造に効率よく収束する (収束性問題)、(3) 収束構造を得るのに必要な計算時間が適切である (計算性能)。中でもサンプリング問題は、ディスタンス・ジオメトリー計算における最も本質的な課題である。これら問題が未解決のアルゴリズムでは、アルゴリズム由来のバイアスが蛋白質の立体構造本来の特徴を覆い隠してしまう危険性があり、得られた立体構造の信頼性や特徴を正しく評価できない。

本論文では、これら問題を解決するため著者が新たに開発したディスタンス・ジオメトリー計算プログラム EMBOSS を用いてサンプリング問題について検討した。さらに、EMBOSS を構造未知の106残基よりなる RNA 分解酵素リボヌクレアーゼ F1 (RNaseF1) の立体構造決定に応用した。

1. EMBOSS は、4次元空間に拡張したシミュレーテッド・アニーリング (4次元 SA 法) により、距離制限のペナルティー関数を含む目的関数の最適解を探索して立体構造を求める。本法のサンプリング及び収束性能をアラニンペプチド (30mer) と結晶構造からシミュレートした距離制限データを用いたトリプシン・インヒビター (BPTI58 残基) の2つの系で評価した。いずれの系でも4次元 SA 法が極めて大きな収束半径を有し、ローカルミニマム陥ることなく広範囲のコンフォメーション空間の探索が可能であることを示した。さらに、計算構造と結晶構造間に存在する特徴的なずれを距離差マトリックスを用いて見出し、このずれが距離制限データが本来有している性質に由来することを明らかにした。
2. 距離差マトリックスに現れた正負の方向性をもったずれのパターンと立体構造との関連を3つの蛋白質、BPTI、アミラーゼ・インヒビター (Tendamistat 74 残基) および 434-repressor (63 残基) についてシミュレートデータ

を用いて解析した。その結果、距離制限の少ない部分、特に2次構造間において、NMR 構造は結晶構造に比べ膨らむ傾向のずれが現れること、伸びた形状の蛋白質では、再現された立体構造は全体的に丸くなる傾向があることを明らかにした。

3. RNase Flに2次元 NMR 法の COSY および NOESY スペクトルを測定し連鎖帰属法によってシグナルの帰属を行い、820 個の距離制限と 33 個の主鎖二面角の制限データを収集した。このデータを用いたデイスタンス・ジオメトリ計算により、RNase Fl の水溶液中での立体構造を決定した。この構造は、独立に決定された結晶構造と極めてよく類似しており、RNase Fl の疎水コア部分は、溶液及び結晶中で同一のコンフォメーションを保持していることが示された。

## 論文審査の結果の要旨

近年 NMR のデーターにもとづき、溶液中の蛋白質の立体構造を決めることが盛んに行われ、いくつかの計算方法が提出されている。しかし、初期に開発された計算法では、サンプリング空間に片寄りがあるとか、局所構造に陥入ると抜け出しにくい等の難点が指摘されていた。中井孝尚君はこの問題を解決するために4次元空間に拡張したシミュレーテッド・アンニーリングによって核間距離やキラリティーの情報を含む目的関数を最適化して立体構造を求める方法を開発した。この方法の計算アルゴリズム、適用例、特性と評価を示した本論文は、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。