2PA049

高分解能 X 線結晶構造の基準振動精密化
○城地保昌、木寺詔紀 (京大院理)

X 線結晶構造解析はタンパク質の立体構造を決定する最も有効な手段の一つであり、その分解能は結晶の回折能の限界によって決まる。多くのタンパク質結晶構造の分解能は 2Å 程度であり、その結晶構造精密化は水素を含んでいないモデルにより行われている。しかし最近、約 1Å の分解能をもつ結晶の報告[1]もありこの場合には水素を含んだモデルによる精密化法が必要となる。

そこで、われわれが従来用いている基準振動精密化法[2]を水素も含んだものに改良したので報告する。水素の原子座標を変数に加えると変数が約 2 倍になってしまう。これを避けるため、この方法では水素の原子座標を以下のように扱った。

(水素の原子座標) = $\bar{r}$ (最少数の周辺原子の座標)

このように間接的に水素の原子座標を取り扱うことにより変数の数を増やすことなく水素をモデルに取りこんだ。

[1] Z. Dauter *et al.*: *Curr. Opin. Struct. Biol.* (1997) 7(5), 681-688

[2] A. Kidera *et al.*: *J. Mol. Biol.* (1992) 225, 457-475

特徴◇異方的温度因子。

◇揺らぎを分子の内部揺らぎと外部揺らぎに分解。

Y. Jochi, A. Kidera: Normal mode refinement;
Application to high-resolution X-ray crystal.

2PA051

Design and Construction of an Active Trypsin Inhibitor Using a 9-Residue Alphabet.

Yutaka Kuroda Genomic Sciences Center, RIKEN, 2-1 Hirosawa, Wako-shi, Saitama, 351-0198, and Whitehead Institute, MIT Nine Cambridge Center, Cambridge, MA02142.

It is being recognized that an amino acid sequence containing only a subset of the 20 naturally occurring amino acids can define a native protein structure. To test this hypothesis, we designed and produced an active trypsin inhibitor that is composed of only 9 residue types. This 9-residue-type inhibitor sequence was rationally designed based on the sequence of Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor (BPTI), and by replacing A and T with A; R and K with R; E or D with E; L, V, I, M with L; F, Y, W, H with F; N, Q, S for N; and keeping C, P, G. A total of twenty mutations were introduced following the above scheme.

Sedimentation equilibrium experiments indicate that this 9-residue-type inhibitor is monomeric, and CD experiments show that this molecule melts cooperatively with a midpoint temperature of 45°C. The 1D-NMR spectrum is native-like, and 2D-NOESY spectrum suggests that the two beta strands existing in the structure of the native BPTI remain structured in the mutant. The activity of this 9-residue-type trypsin inhibitor is similar to that of BPTI. This is a further indication that the structure of this 9-residue mutant is very similar to that of the wild-type BPTI.

Present address: Protein Research Group, GSC, RIKEN.
Phone: (048)-467-9728, E-mail: kuroda@jota.riken.go.jp.

2PA050

平均場近似によるタンパク質の立体構造比較
○小池亮太郎、木寺詔紀 (京大・院・理)

2つのタンパク質の立体構造を残基レベルで比較する際、これまでは残基間に 1 対 1 の対応を与えることを前提にし、評価関数をつくり、その得点を最適にするアライメントを求め、2つのタンパク質の類似性を評価してきた。この方法では与えられた評価関数による得点を最適にするようなアライメントだけを求めてしまうために比較的類似性は高いが最適なアライメントにはかからないような類似構造を見つけれなかった。

本研究では、上記のように 2つのタンパク質の残基間に 1 対 1 の対応を与えてしまうのではなく、一方のタンパク質の 1つの残基がもう一方のタンパク質の複数の残基にある確率を持って対応づけられると見なしたうえで、2つのタンパク質の立体構造の類似性を評価する。

このように、2つのタンパク質の残基と残基の間の対応に確率を導入することによって、2つのタンパク質の全残基間にわたって確率的な対応関係を与えることができ、2つのタンパク質の残基間の確率的な対応関係を示す行列を得ることができる。それによって最適なもののより類似性が低い対応関係しか持たないような部分でも、ある程度の確率を持って対応づけがなされるため、その行列上に見ることができる。

今回の発表では、この方法をいくつかのタンパク質に適用した結果や、この方法論のもつ特性に関して報告する。

R.Koike, A.Kidera: Comparison of Protein Structures by
Mean Field Approximation

2PA052

3DinSight: An Integrated Database and Visualization Tool of Bio-information

Jianghong An¹ Takao Nakama² Yasushi Kubota² Akiyori Sarai¹

¹ Tsukuba Life Science Center, RIKEN

² Advanced Tech. Inst. Inc.

3DinSight is developed to help researchers to get insight into relationship among structure, function and property of biomolecules. It is an integrated database as well as a search and visualization tool of bio-information[1].

The structural data of the database are taken from PDB and updated automatically. The functional sites and mutant positions from PROSITE and PMD are mapped on the amino-acid sequences of PDB in advance. Various properties of amino acids based on their physico-chemical properties such as hydrophobicity and propensities for secondary structures are stored in the database also. Following new databases are direct linked to 3DinSight: 1) Thermodynamic Database for Proteins and Mutants (ProTherm), which is a collection of various thermodynamic data of proteins and their mutants, 2) Protein-Nucleic Acid Recognition Database, which include structural database for protein-nucleic acid complex, base-amino acid interactions and prediction tools for transcription factor targets, 3) Thermodynamic Database for Protein-Nucleic Acid Interactions for understanding the mechanism of protein-nucleic acid recognition.

One can combine various searches such as entry, keywords, author, structure resolution and sequence pattern in the secondary structure, with linking option for functional information through WWW interfaces. 3DinSight also contains various interfaces for searching other databases and many convenient tools such as finding motifs and sequence homologues in PDB for user's sequence. The screened structure and associated functional or mutation sites can be visualized by using visualization tools, VRML and RasMol[2]. We modified the RasMol to make the functional or mutation sites in the 3D structure clickable, so the linked information such as documents can be displayed. From the interface of amino-acid analysis, properties of the molecule can be examined and the property profiles can be plotted as a graph, where the actual locations of secondary structures, functional and mutation sites are automatically mapped. 3DinSight is freely accessible through the Internet (<http://www.rtc.riken.go.jp/3DinSight.html>).

[1] An, J., Nakama, T., Kubota, Y. and Sarai, A. 3DinSight: An Integrated Relational Database and Search Tool for Structure, Function and Property of Biomolecules, *Bioinformatics*, 14:188-195, 1998.

[2] Nakama, T., An, J., Kubota, Y. and Sarai, A. Visualization of Functional Sites on Protein Structures by Virtual Reality Modeling Language, *Bioimages*, 5:59-64, 1997.

¹ 3-1-1 Koyadai, Tsukuba, Ibaraki, 305 Japan, E-mail: {ajh,sarai}@rtc.riken.go.jp

² 2-3-13-103 Tate, Shiki, Saitama, 353-0006 Japan