3PA121

マルチカノニカル・モンテカルロ法による

塩基・アミノ酸の相互作用の計算

○佐谷野健二¹、河野秀俊²、M. M. Gromiha³、皿井明倫³
(¹電総研, ²University of Pennsylvania, ³理研)

遺伝子発現の時間的空間的な制御は多くの DNA 結合蛋白質が特異的なターゲット配列を協同的に認識することによってなされており、発生や形態形成などの複雑な生命現象において重要な役割を果たしている。蛋白質が DNA 配列を認識するメカニズムを明らかにするには、まずアミノ酸が塩基とどのように相互作用して特異的を発揮しているかを理解する必要がある。近年、蛋白質・核酸複合体の構造が次々と明らかにされ、アミノ酸と塩基の特異的相互作用に関する知識が蓄積しつつあるが、それらの構造データを統計的に解析してみると、特異的相互作用はユニークなものでなく、冗長性や構造の柔軟性が重要であることがわかる。そのような複雑な特異性を解析するため、本研究では、塩基とアミノ酸の相互作用の計算機シミュレーションを行う。この方法では、第一原理から出発し、経験的なパラメータを用いずに塩基とアミノ酸の相互作用エネルギーを計算し、さまざまなコンフォメーションを系統的にサンプリングすることにより、相互作用の自由エネルギーマップを求める。このようなマップをさまざまな塩基とアミノ酸の組み合わせについて比較すると、塩基とアミノ酸の特異性に関する情報を得ることができる。この場合、コンフォメーションサンプリングの方法が計算の精度と速度に重要な影響を与える。そこで本研究では、位相空間を効率的にサンプリングする方法としてマルチカノニカル・モンテカルロ法を適用し、相互作用特異性を評価する方法を開発した。

K. Sayano, H. Kono, M. M. Gromiha, A. Sarai: Calculation of DNA - Amino Acid Interaction by Multicanonical Monte Carlo Method

3PA123

転写因子のターゲット予測：Sequence-based 法と ΔG -based 法の比較

○王翼飛、皿井明倫（理研）

遺伝子発現の時間的空間的な制御は多くの DNA 結合蛋白質が特異的なターゲットを協同的に認識することによってなされており、発生や形態形成などの複雑な生命現象において重要な役割を果たしている。高等生物では非常に多くの転写因子が存在し、各々の転写因子が組み合わせたり複数のターゲットを制御する複雑なネットワークを形成している。最近のゲノム解析の進展により、膨大な量の新しい遺伝子や転写因子が明らかにされているが、このような複雑なシステムでは、実験だけでは遺伝子発現メカニズムの全体像を明らかにすることは困難である。計算機によるターゲット予測やシミュレーションが必須となるであろう。我々は転写因子によるターゲット配列部位を予測する方法をいくつか開発している。まず、最もよく用いられている方法に sequence-based 法がある。これは、実験で知られている結合配列をアラインメントすることによりコンセンサス配列のプロファイルを求め、これに基づいて予測を行う方法である。簡便に予測を行うことができるが、この方法の精度は配列の質に大きく依存し、一般に予測精度はあまりよくない。一方、同様なプロファイルは蛋白質と DNA の結合強度を系統的な塩基置換に対して測定することにより求めることができる。この方法の利点は、蛋白質の結合する DNA 配列上の各位置におけるプロファイルが実際の物理的な結合データに基づいており、より正確な予測ができると考えられる。ただ、この方法に必要なデータを得るためにはかなりの労力を要することが欠点である。今回、これらの 2 つの方法について、同じ蛋白質に対して比較してみた。また、これらの方法の問題点等についても検討する。

Y. Wang and A. Sarai: Prediction of target sites for transcription factors - Comparison between sequence-based and ΔG -based methods

3PA122

転写因子のターゲット予測：Structure-based 法と *ab-initio* 法
河野秀俊^{1,4}、M. Gromiha¹、佐谷野健二²、F. Pichierri¹、相田美砂子³、○皿井明倫¹（¹理研、²電総研、³広島大、⁴ペンシルバニア大）

転写因子などの DNA 結合蛋白質による特異的なターゲット配列の認識は、遺伝子発現の時間的空間的な制御、ひいては発生や形態形成などの複雑な生命現象において重要な役割を果たしている。膨大な数の転写因子とそのターゲットからなる制御ネットワークを理解する一環として、我々は転写因子によるターゲット配列部位を予測する方法をいくつか開発している。ターゲット予測法には、配列や結合データなど構造に基づかない方法と、アミノ酸と塩基の相互作用まで立ち入った構造に基づく方法が考えられる。構造に基づく方法としては、これまでにわかっている多くの蛋白質・核酸複合体の構造データを統計的に解析し、アミノ酸と塩基がどのような特異的相互作用をしているかを調べる方法[1]と、塩基とアミノ酸の相互作用の計算機シミュレーションを行う方法[2]などが考えられる。前者の方法では、データベースの統計解析からアミノ酸と塩基のペアについて相互作用ポテンシャルを経験的に導出し、これを用いて蛋白質・核酸複合体に適合する配列を予測することができる。一方後者の方法では、第一原理から出発し、塩基とアミノ酸の相互作用エネルギーを計算し、さまざまなコンフォメーションを系統的にサンプリングすることにより、統計ポテンシャルに相当する自由エネルギーマップを求める。本研究では、両者の方法を用いて塩基とアミノ酸の相互作用ポテンシャルを計算した。また、いくつかのアミノ酸と塩基の相互作用について両者の結果を比較した。これらの結果から得られた、アミノ酸・塩基相互作用の特異性、エントロピーの役割、ターゲット予測への応用などについて議論する。

[1] H. Kono and A. Sarai *Proteins* 35, 114-131 (1999).

[2] F. Pichierri, M. Aida, M. Gromiha and A. Sarai *J. Am. Chem. Soc.* in press (1999).

H. Kono, M. Gromiha, K. Sayano, F. Pichierri, M. Aida and A. Sarai: Prediction of target sites for transcription factors - Structure-based and *ab-initio* methods

3PA124

蛋白質・DNA 認識における塩基置換効果の予測 (IV) Lambda 及び Cro レプレッサーの配列認識における特異的相互作用の成分分析

○大島玄久¹、河野秀俊²、王翼飛²、皿井明倫²(¹名城大・理工、²理研ライフセンター)

蛋白質が塩基を特異的に認識する機構を解明するために、蛋白質と塩基間の相互作用エネルギーを計算した。我々は蛋白質と核酸の複合体の X 線構造解析とこの複合体の結合エネルギーが知られている λ cl リプレッサーと λ Cro リプレッサーを蛋白質と塩基間の特異的相互作用を調べるターゲットとして選んだ。両蛋白質は核酸に結合する helix-turn-helix の共通の motif をもっている二量体であるが、異なった立体構造をとっている。一方、 λ DNA のオペレータの塩基配列を他の 3 種類の塩基で置換した一塩基置換 DNA と リプレッサーの結合エネルギー変化 $\Delta \Delta G$ が両者で違っていることが明らかになっている。また、 λ cl リプレッサーはエンタルピー駆動型で、 λ Cro はエントロピー駆動型であることが知られている。

我々は、通常の分子力場のエネルギー (Amber 3.0A) と接触表面積から計算される鎖のエントロピーと水和エネルギー (1) を組み合わせることによって、 λ cl リプレッサーと塩基間の相互作用を計算してきた (2)。この計算方法を λ Cro リプレッサーにも適用し、両者の塩基認識の違いをエネルギー的に明らかにする予定である。 λ cl リプレッサーに対しては、次の様な結果が得られた。

1. 塩基配列を他の 3 種類の塩基で置換した一塩基置換 DNA をモデリングし、その DNA と λ cl リプレッサーの複合体の相互作用エネルギー $\Delta \Delta G$ を計算し、実験値に近い値を得た。
2. 大部分の $\Delta \Delta G$ の変化はクーロン相互作用並びに水素結合によって説明可能であった。
3. しかし、いくつかの場所では、塩基置換効果はクーロン相互作用や水素結合では説明できずファンデルワールスエネルギーや水和エネルギーが主要な成分であった。

(1) M. Oobatake and T. Ooi *Prog. Biophys. Molec. Biol.* 59, 237 (1993).

(2) 生物物理学会年会予稿集 Vol. 36 S67 (1996), Vol. 37 S34 (1997), Vol. 38 S165 (1998).

M. Oobatake, H. Kono, Y. Wang, A. Sarai : Prediction of Base Mutation Effects on Protein-DNA Recognition (IV) Anatomy of Specific Interactions in the Sequence Recognition by Lambda and Cro Repressors.