

進化実験系の解析・評価技術・適応歩行技術の研究：蛋白質 Remote homologue 間で保存されているアミノ酸特性値の検出

Detection of amino-acid properties structurally conserved in remote homologue proteins

相田拓洋^{1*}、伏見譲²
Takuyo Aita¹, Yuzuru Husimi²

¹ ノバルティスファーマ（株）筑波研究所、² 埼玉大学工学部機能材料工学科

¹ Novartis Pharma K.K., ² Saitama University

合理的な進化分子工学の方法論を確立するには、「アミノ酸配列空間上の適応度地形」の研究が不可欠である。我々の研究成果からは、アミノ酸置換効果は概ね加算的もしくは累積的であることが明らかになり、野生型配列近傍の局所配列空間における適応度地形は「富士山型地形」と見なせることが分かった。この場合に最も有効である進化戦略は、我々が提案した「Biased mutation scrambling 法」である（平成11年度成果報告書）。一方、大域的な配列空間における適応度地形に関しては未知の領域であるが、新規機能を有する蛋白質等を創出するにはこの地形の統計的性状を探ることが重要である。近年、蛋白質のデータベースが充実するにつれて、配列相同性の非常に低い複数の蛋白質、言い換えると、配列空間中で相互に離れた位置に存在する蛋白質が共通の立体構造をとる例（グロビンフォールドなど）が数多く知られており、これらの蛋白質群はリモートホモログと呼ばれている。我々は、リモートホモログの研究が大域的な適応度地形に関する示唆を与えるとの考えの元に、リモートホモログ間でアミノ酸特性の値が保存されている可能性を探るため、様々なアミノ酸特性に着目してその保存の度合いを統計解析した。FSSP データベースから選んだ22構造を対象立体構造とした。ここでのアミノ酸特性は、3種類の疎水性値（オクタノールから水への転移自由エネルギー、シクロヘキサンから水への転移自由エネルギー、Sweet 疎水性値）、体積、比熱、 α ヘリックス傾向指数、 β シート傾向指数である。保存性は、（1）アミノ酸配列上の部位ごとにおける保存（singlet conservation）と（2）互いに近接しているアミノ酸残基の4つ組における保存（quartet conservation）の2つの場合を扱った。ここで、近接した残基の4つ組の定義は、 β 炭素の原子座標に基づいたDelauney分割を用いて行った。保存性の定量は、特性値 v のホモログ間における”ばらつき”の偏差 σ と、その σ のバックグラウンドに対する Z スコアを用いた。結果として、singlet conservation に関しては、「オクタノールから水への転移自由エネルギー」が、quartet conservation に関しては「シクロヘキサンから水への転移自由エネルギー」がそれぞれ保存されていることが分かった。特に、Delauney 細胞（四面体）中のアミノ酸側鎖のパッキング密度が大きい4つ組は有意な保存性を示した。われわれは quartet conservation をさらに、singlet conservation の組み合わせによる効果と、アミノ酸側鎖のジグソーパズル効果に分けて解析した。その結果、quartet conservation の大部分が前者の効果によりもたらされることが判明した。後者に関しては、アミノ酸の体積が比較的良く保存されていた。

本研究は、通産省産業科学技術研究開発制度「加速型生物機能構築技術」の一環として、新エネルギー産業技術総合開発機構(NEDO)の委託（ノバルティスファーマ）およびバイオテクノロジー開発技術研究組合の再委託（埼玉大）を受けて、実施したものである。

*〒338-8570 浦和市下大久保 255 電話:048-858-3756 FAX: 048-858-3531:
Email: aita@evolve.fms.saitama-u.ac.jp