

解説



エキスパートシステムを用いたタンパク質の立体構造の推定と病気治療への応用†

谷村隆次†† 梅山秀明†††

1. はじめに

近年の遺伝子工学技術の進歩は著しく、ガンや免疫などの医学上重要でかつ最先端の研究が分子レベルで急速に解明されてきている。そのような状況の中で、タンパク質の構造を明らかにすることは避けて通れない重要な課題であり、タンパク質工学による新規な機能をもつタンパク質の開発や薬物-受容体相互作用解析に基づく、医薬品の開発にはタンパク質の立体構造に関する情報が必須である。

タンパク質の構造と機能を決める上で、いわゆるバイオテクノロジー的な手法がよく使われる。たとえば、遺伝子組み替えによる点変異タンパク質、キメラタンパク質の作成、モノクローナル抗体による研究などは、タンパク質の構造と機能を解明する上での常套手段となっているが、残念ながらこれらの手法はタンパク質の立体構造に関して間接的な実験事実しか提供してくれない。タンパク質の立体構造が分かっている場合でも、これらの実験事実を積み重ねていけば、ある程度、タンパク質の構造がみえてくるが非常に効率が悪い。

一方、直接実験的にタンパク質の立体構造を知る方法として、X線結晶解析があるが、多大な時間と労力が必要であり、これまでに、多く見積ったとしても約250種類のタンパク質の立体構造が決定されているにすぎない。最近X線源としてシンクロトロン放射光(SR光)が利用されるようになり、以前に比べてかなり解析速度は上がったが、依然としてタンパク質の結晶化が非常に難しいという問題が残っているため、まだ飛躍的な解析のスピードアップは望めそうにない。

また、タンパク質の一次構造つまりアミノ酸配列は

最近約十年の間に数万というオーダーで決定されて非常に価値ある情報が存在しているが、上に述べたように立体構造の解析は一次構造が決定されるスピードについていけず、価値ある情報を利用しきれていないのが現状である。

立体構造決定のためのもうひとつの実験的手段として、核磁気共鳴法(NMR)がある。その測定技術の急速な進歩と多次元NMR法の発展によって、比較的容易に立体構造が決定されるようになってきた。それでも分子量の比較的小さい約100残基以下のタンパク質にしか現在のところ適用できておらず、より大きなタンパク質の解析が今後の課題となっている。

このように、タンパク質の立体構造を実験的に決定することは、現状ではかなりの困難がともなうため、コンピュータを利用することによって、なんとか理論的に立体構造を予測しようとするさまざまな方法論の研究が盛んに行われている。現在大きく分けてその方法には2通りある。ひとつは立体構造を予測したいタンパク質(目的タンパク質)に対して、一次構造上相同性がある類縁タンパク質(family protein)で、すでにX線結晶解析などにより立体構造が分かっているタンパク質がある場合に、その立体構造を参考にして構造予測を行う方法^{1),2)}で、この方法が現在のところ最も精確な予測方法と考えられている。筆者らの研究室では、高血圧症に深く関わっている酵素であるレニン¹⁾、リボ核酸分解酵素の類縁タンパク質(RNase Msなど)³⁾、この後取り上げるCD4タンパク質を含む免疫グロブリンスーパーファミリーに属する免疫系のタンパク質(CD8, T細胞受容体など)⁴⁾などの立体構造推定をこの方法を使って行っている。もうひとつの方法は、二次構造予測にもとづく方法^{5),6)}で、適当な参照タンパク質が見つからない場合にはこの方法を用いるしかないようである。その精度は最近かなり改良されてきているが、まだ実用化には多くの課題を残している。

† Family Protein Modeling by Expert System and Application of Medical Treatment by Ryuji TANIMURA (Basic Research Laboratories, Toray Industries, Inc.) and Hideaki UMEYAMA (School of Pharmaceutical Science, Kitasato University).

†† 東レ基礎研究所

††† 北里大学薬学部薬品物理化学教室

ここでは、前者の類縁タンパク質を用いた推定方法を使って、エイズウイルスが生体内でまず最初にとりつくタンパク質 CD4 を例にとり、エキスパートシステム BIOCES[E]^{*}によるタンパク質の立体構造推定(モデリング)の方法を中心に概説し、その病気治療への応用の可能性などについて述べてみたい。

2. エキスパートシステム BIOCES [E] によるタンパク質のモデリング

CD4 抗原は、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する分子量 55 K の糖タンパク質であり、おもに生体内の免疫をつかさどるリンパ細胞のひとつであるヘルパー T 細胞の膜表面に発現している、通常は、正常な免疫機能に関与している⁷⁾。CD4 は、一方、後天性免疫不全症候群 (Acquired Immune Deficiency Syndrome; AIDS, エイズ) の原因ウイルスであると広く認められているヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus; HIV) の受容体タンパク質であることも明らかにされている⁸⁾。

エイズ発症のメカニズムは、まだ多くの謎に包まれているが、基本的には、HIV のヘルパー T 細胞への感染、破壊、細胞数の低下、それにともなう免疫機能の低下、そして発症という過程をとると考えられている⁹⁾。HIV のヘルパー T 細胞への感染は、ウイルスエンベロープ (外皮) 上の gp 120 と呼ばれる分子量 120 K の糖タンパク質と CD4 の特異的結合により始まる¹⁰⁾。したがって、CD4 と gp 120 の結合過程を阻害できれば、HIV の感染、生体内での伝播を防ぐことができると考えられ、CD4 と gp 120 の分子間相互作用に関する基礎的研究、ならびにこの過程をターゲットにしたワクチン¹¹⁾や、治療薬¹²⁾の開発などの応用的研究が活発に進められてきている。

CD4 および gp 120 の立体構造を実験的に決定する試みは今のところ成功していないが、CD4 のアミノ末端側の gp 120 との結合部位を含むドメイン (アミノ酸残基番号 1-109) の立体構造は、われわれの研究室を含むいくつかのグループで最近理論的に推定された^{4), 13)}。ここでは、われわれの研究室で開発してきたエンジニアリングワークステーション上で稼働するエキスパートシステム BIOCES[E] による立体構造推定の手順を CD4 タンパク質のアミノ末端ドメインを例にとって説明する。

2.1 BIOCES [E] におけるタンパク質の立体構造推定の流れ

BIOCES[E] におけるタンパク質の立体構造推定の流れ図を図-1 に示した。図中の一連の流れにおいて、データベース、計算化学、経験則の可能なかぎり取り入れ、ほぼ自動的にタンパク質の構造推定が行われるようになっている。しかも、途中の各段階で、結果を画面上でグラフィックスによりチェックでき、研究者の主観、実験データなどの知見などにより、必要があれば適宜修正を加えることが可能になっている。

2.2 参照タンパク質の検索

一次構造上の相溶性の高いタンパク質間では、一次構造上の相溶性以上に立体構造が非常によく似ていることが分かっている。たとえば、同じ免疫グロブリンタンパク質の一種である 1REI と 1FBJ との間でペプチド主鎖の立体構造を比較すると、両者間の一次構造上の相溶性は約 50% にもかかわらず、主鎖の立体構造はそっくりで、直径約 30 Å の両分子を重ね合わせると平均約 0.5 Å のずれしかない。

そこで CD4 のアミノ末端ドメインの立体構造を推定する場合、まず最初に CD4 と一次構造上の相溶性が最も高く、しかもすでに立体構造が実験的に解明されているタンパク質 (参照タンパク質) を探し出すことになる。荻岡らによって開発された参照蛋白質検索プログラム¹⁴⁾により検索を行った結果、タンパク質の立体構造データベース (Protein Data Bank) に登録されているタンパク質の中から、免疫グロブリンの一種 (PDB 登録名 1FBJ) の軽鎖のアミノ末端ドメインが CD4 と一次構造上の相溶性が最も高いタンパク質のひとつとして検索されてきた。以下、立体構造既知のタンパク質の中で最も CD4 と似ていると考えられ

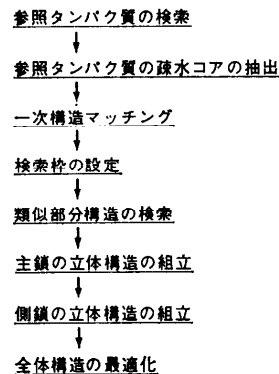


図-1 BIOCES [E] における類縁タンパク質立体構造推定の流れ

* BIOCES[E] BIOChemical Expert System の略

る 1FBJ の立体構造をもとに CD4 の構造を推定し、モデリングを行う。

2.3 参照タンパク質の疎水コア¹⁵⁾の抽出

水溶性の球状タンパク質ではタンパク質を構成するアミノ酸残基のうち親水性のアミノ酸残基は水と接触するよう表面に露出し、一方、疎水性（親油性）のアミノ酸残基はタンパク質の内部に集まり、疎水性のコアを形成し立体構造を保持するための骨組みとなっている。この疎水コアはタンパク質の構造の保持に重要な役割をはたして、タンパク質の進化、分化の過程で、疎水コアに属するアミノ酸残基は非常によく保存されることが分かっている¹⁵⁾。以降のステップで利用するために、参照タンパク質 1FBJ について各アミノ酸残基がもつ疎水結合の数（疎水コア値）¹⁵⁾および疎水コア形成アミノ酸残基からの各アミノ酸残基の平均距離（疎水コア距離）¹⁵⁾の算出を行う。

2.4 疎水コア値を利用した一次構造マッチング

CD4 が参照タンパク質の 1FBJ に対してどの位置でアミノ酸残基の挿入・欠失が生ずるかを決定するために、両者の一次構造のアライメント、すなわち、一次構造マッチングを行う。このマッチングは Needleman-Wunsch のマキシマムマッチングアルゴリズム¹⁵⁾を利用して求める。しかし、この Needleman-Wunsch のマッチングアルゴリズムは進化の過程におけるアミノ酸残基の挿入や欠失がほとんどの場合立体構造上タンパク質分子の表面のループおよびターン構造をとっている部位に認められるという点を考慮に入れていないため、立体構造上で比較することによって求めたマッチングとはかなり異なることが分かっている。BIOCES[E] では、この点を考慮し、Needleman-Wunsch のマッチングアルゴリズムを改良し、進化の過程においてタンパク質内部の疎水コア部位のアミノ

酸の挿入や欠失がほとんどないことに着目し、2.3 で求めた参照タンパク質の疎水コア値を利用して、疎水コア部位において挿入や欠失が起こることを抑制する一次構造のマッチングアルゴリズムを採用している¹⁷⁾。

CD4（目的タンパク質）と 1FBJ（参照タンパク質）について、上記の一次構造マッチングを行い、図-2 に示したように、CD4 の 1FBJ に対するアミノ酸残基の挿入・欠失部位が特定した結果、3カ所に挿入、1カ所に欠失が起こっていることが分かった。

2.5 主鎖の組み立て

2.4 のマッチング結果をうけて、タンパク質のペプチド主鎖*の組み立てを行う。一次構造マッチングの結果、目的タンパク質の中で参照タンパク質と保存または置換の関係にある残基については参照タンパク質の主鎖の原子の3次元座標をそのまま利用することになる。しかし挿入または欠失が起こっている部位（図-2 下線部）では対応する参照タンパク質の主鎖の座標がないため、各種の情報を利用して、挿入・欠失部位に対して類似部分構造の検索¹⁸⁾を行い、検索されてきた類似部分構造を使って主鎖の立体構造を組み立てる。以下にその手順を示す。

2.5.1 類似部分構造の検索部位の特定

まず、2.3 で求めた参照タンパク質の疎水コア距離を用いることによって、類縁タンパク質間の立体構造上の変異の起こりやすさをアミノ酸残基単位で推定する。

* ペプチド主鎖、側鎖

タンパク質は鎖状に重合した多数のアミノ酸によって構成されている。—N—Cα—C(=O)—の繰り返し単位で鎖状につながっている部分を主鎖とよぶ。側鎖は主鎖のα炭素(Cα)から分岐している。タンパク質の多様性は、側鎖の異なった20種類のアミノ酸がいろいろな配列をとることによって生じる。

53

	1		
CD4	-----	QGNKVVVLGKKGDTVELTCTASQKKSIQFHWKNSNQIKILGNQGSFLTKGPSKL	
1FBJ	EIVLTQSPAITAASLGLQKVTITCSASSSVS-SLHWYQQKS-----	GTSPKEWIYEISKL	

109

	54		
CD4	QDRADSRRLSLWDQG-NFPLLIKLNKIEDSDTYICEVEDQKEEVQLLVFGLTANSDDTH		
1FBJ	ASGVPARFSGSGSGTYSLSLTINTMEAEDAAIYYCQQWT-----YPLITFGAGTKLELK		

図-2 CD4 と 1FBJ の一次構造マッチング結果
上段が CD4、下段が 1FBJ のアミノ酸配列。
挿入・欠失部位を下線、検索枠を四角枠で示した。

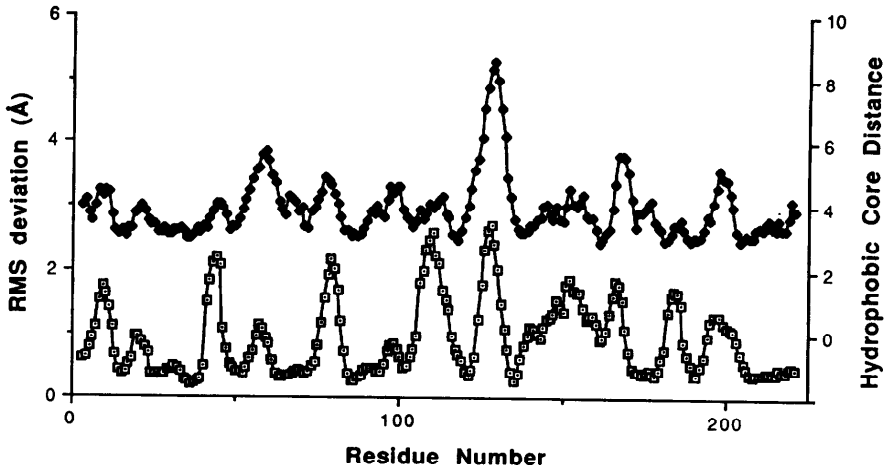


図-3 立体構造のずれと疎水コア距離との関係
トリプシンの疎水コア距離を折れ線グラフを上、エラスターゼとトリプシンの主鎖の立体構造のずれを折れ線グラフ下に示した。疎水コア距離が大きい部分は立体構造のずれが大きいことが分かる。横軸はトリプシンのアミノ酸残基番号。

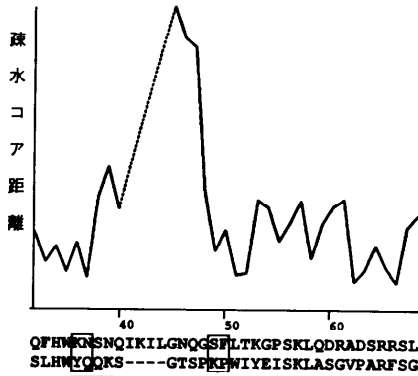


図-4 CD4の挿入部位前後の疎水コア距離
縦軸は、1FBJの疎水コア距離、横軸は、上段がCD4のアミノ酸配列、下段が1FBJのアミノ酸配列を表している。四角枠が検索枠で、下線部が類似部分構造検索の対象となる部位を示している。

図-3に、どちらもX線結晶解析により立体構造がすでに知られているタンパク質分解酵素セリンプロテアーゼの同族タンパク質であるトリプシンとエラスターゼを例にとって、両者の立体構造を重ね合わせたときの各アミノ酸残基の主鎖のずれと、トリプシンの疎水コア距離を重ねてプロットした。このグラフからも分かるように、疎水コア距離が小さい、つまり疎水コア内部にあるアミノ酸残基ほど、類縁タンパク質間で立体構造の変異が小さく、疎水コア距離が大きく

タンパク質表面にあるアミノ酸残基では変異が大きい。そして一般に、類縁タンパク質間でのアミノ酸残基の挿入・欠失は、ほとんどの場合疎水コア距離の大きいグラフ上で山となっている部分で起こることが分かっている。疎水コア距離の小さい部分(グラフの谷)は立体構造を保持するための骨組みとなる疎水コアの内部に属していて、進化の過程でこの部分にアミノ酸残基の挿入・欠失が起こった場合、そのタンパク質は立体構造を保持できなくなる。このように、機能あるタンパク質の構造を保つために不可欠な疎水コア内部では主鎖の構造に大きな変化は起こらないことが知られている。

図-4にCD4の42番目のアミノ酸残基付近の挿入部位前後の疎水コア距離をプロットしたグラフを示した。このグラフで挿入部位の両側の四角の枠(検索枠)に挟まれた部分は次節の類似部分構造検索の対象となる部位で、この検索枠は、この枠の内側でCD4の主鎖の立体構造がずれ始め、外側は枠部分を含めてCD4の主鎖の立体構造が参照タンパク質1FBJに対してよく保存されていると推定される部分に設定する。5つある挿入・欠失部位について、検索枠を設定する(図-2)。

2.5.2 類似部分構造の検索

CD4の主鎖の立体構造は、検索枠間の挿入・欠失部位(図-2下線部)以外の部分(以下、この部分を主鎖保存部位と呼ぶ)では、参照タンパク質の立体構

造を良く保存していると推定されるので、参照タンパク質の立体構造をそっくり利用する。しかし、大きな疎水コア距離をもつ検索枠間の挿入・欠失部位では、主鎖の立体構造は参照タンパク質のものは参考にできない。この部分の立体構造は新たに推定作成し、その立体構造と主鎖保存部位の立体構造とをつなげる必要がある。検索枠内の2残基(図-2 四角枠内)は、新しく作成した立体構造と主鎖保存部位の立体構造とをつなげるためののりしろにあたる。

検索枠間の挿入・欠失部位の主鎖の立体構造を、人為的に新しく作成することもできるが、これまでに実験的に決定されているタンパク質を集めた立体構造データベースから、お手本となるような類似部分構造を検索し、その立体構造を利用したほうがよい。この検索には、二つの指標を使う。ひとつは、検索枠間の挿入・欠失部位(図-2 下線部)の目的タンパク質(CD4)アミノ酸配列が検索部分構造とどれだけ似ているかを表す指標(一次構造類似度)¹⁹⁾で、もうひとつは、検索部分構造と参照タンパク質間ののりしろ(検索枠部分)の立体構造上の相対配置がどれだけ一致しているかを表す指標(部分構造類似度)²⁰⁾である。これらの指標を使って、CD4とアミノ酸配列が似ていて、しかも、のりしろ部分の相対配置が似ていて、主鎖保存部位と滑らかにつながるような、類似部分構造の検索を行う¹⁹⁾。

これらの指標によって、実験によって得られた立体構造とかなりよく似た構造が検索できることが分かっている²¹⁾。

2.5.3 挿入・欠失部位の主鎖の組み立て

検索してきた類似部分構造と主鎖保存部位の主鎖と滑らかにつなげる。そのとき、類似部分構造を主鎖の結合長、結合角は変化させないでねじれ角のみを変化させて、検索枠部分の主鎖が重なりあうように滑らかにつなげる²¹⁾。

2.6 側鎖の組み立て

次に、推定した主鎖の立体構造に対して、側鎖を発生させ、組み立てる。まず目的タンパク質の側鎖は参照タンパク質との間で保存されているアミノ酸残基については、そのまま参照タンパク質の側鎖の座標を用いる。次に、参照タンパク質との間で類似したアミノ酸に置換されている場合は、できるかぎり参照タンパク質の座標を参照する。参照できない部分やまったく異なるアミノ酸に置換されている場合、さらに挿入・欠失部位のアミノ酸残基については、とりあえず標準

的な座標を用いて組み立てる。しかし、このようにして組み立てた側鎖の座標は他の残基の主鎖や側鎖原子とぶつかりを生じて、エネルギー的に歪んだ構造となる部位が多数できてしまう。そこで新しく組み立てた側鎖については、そのねじれ角を乱数を用いて発生させ、さまざまな、ねじれ角をもつ多数の側鎖の座標を作り、その中からエネルギー的に最も安定な座標を採用する(側鎖モンテカルロ計算)²³⁾。

ところが、この計算を真正直に行うと、側鎖のねじれ角が各アミノ酸残基単位に平均ひとつあるとして、CD4のように約100残基のタンパク質において各ねじれ角について10個の乱数を発生させると、約10の100乗とおりの座標について計算する必要があり、このような計算は事実上計算不可能である。そこで、BIOCES[E]においては、疎水コア内部の保存されている側鎖の周辺の側鎖から順に外側の側鎖に向かって、段階的に側鎖の配座を決めていき、さらに側鎖の配座のねじれ角の実験値の統計²²⁾に従った重み付けをした乱数を用いることによって、サンプリングの効率を大幅にあげて計算を行っている²³⁾。

2.7 全体構造の最適化

最後に組み上げた全体の構造をエネルギー的により安定になるように最適化する必要がある。低分子でよく使われる量子力学に基づいた分子軌道計算は計算時間が原子数の約4乗に比例して増えるために、原子数が数千から数万個におよぶタンパク質分子では適用できない。タンパク質のエネルギー最適化計算には古典力学による近似に基づいた分子力場計算および分子動力学計算が用いられる。分子動力学計算は分子力場計算によって得られる原子間に働く力をもとに、ニュートンの運動方程式に従って、分子の運動をシミュレーションすることができる。対象分子にある設定した温度に相当する熱エネルギーを与えてやるので、初期立体構造

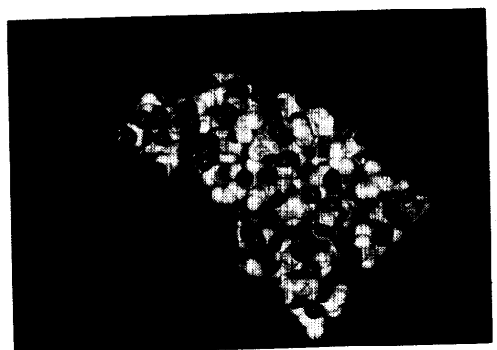


図-5 CD4 アミノ末端ドメインの推定立体構造

から出発して、エネルギー障壁を乗り越えてその温度でとり得るさまざまな構造を得ることができる(図-5)。

3. 医薬品開発とドッキングスタディ

薬物と受容体タンパク質とは、よく鍵と鍵穴の関係にたとえられる。受容体タンパク質の構造が推定されれば、その構造をもとに受容体タンパク質に作用する薬物との相互作用を解析し、より鍵穴に合う鍵、つまりより効果のある医薬品をデザインすることができる。薬物と受容体の相互作用を解析するためには、まず薬物がどのように受容体と結合するかを知る必要がある。

薬物がドッキングして受容体タンパク質と結合した最終構造に到達するためには、多くの過程を踏み、多くのエネルギー障壁を越えなければならない。これらの過程は生体内では数秒間かかる出来事であり、この過程をシミュレーション計算によりフォローすることは、現在のコンピュータ事情ではとうてい不可能であり、スーパーコンピュータをもってしても10の9乗分の1秒程度の過程しかシミュレーションできない。そこで、薬物を受容体タンパク質と結合した状態もっていくために、人間の目と最近急速に普及発達してきたコンピュータグラフィックスを活用することになる。ステレオビューア(stereo viewer)と呼ばれる偏光を利用した装置を使うことで、専用のサングラスをかけるだけで、分子が立体的に見えるようになっている。BIOCES[E]においては、この装置で表示した薬物分子を原子間距離、分子間相互作用エネルギーなどをモニタしながら、受容体タンパク質の結合部位におおまかに当てはめることができる。

薬物を受容体タンパク質の結合部位近くまでもっていくことができれば、分子動力学計算、Metropolis法によるモンテカルロシミュレーション、分子軌道法などで、結合状態の薬物および受容体タンパク質の立体構造を推定することができる。また、水などの溶媒中での薬物と受容体タンパク質との結合エネルギーを分子動力学計算を応用した計算手法により²⁴⁾、定量的に見積もる試みもなされている。BIOCES[E]では、結合状態における薬物の受容体タンパク質との形状的、静電的、疎水的な相互作用のあてはまりの良さを、薬物の原子表面の細分化したパッチ単位で詳細に表示解析できる。受容体と結合がより強い薬物を設計する上で、これらの解析は、非常に大きな力を発揮する。

実際に、ドッキングスタディにより開発された薬物

としては、高血圧症に関係する酵素レニンに結合し、レニンの血圧上昇作用を阻害する薬物²⁵⁾などがある。その成功例は少ないが、ドッキングスタディは薬物設計において欠くことのできない手法となってきた。

4. エイズ治療への応用

CD4とエイズウイルスの表面タンパク質gp120との結合について、これまで非常に多くの遺伝子工学的な実験がなされており²⁶⁾、それらの結果を総合すると、CD4がgp120と結合する部位は、CD4のアミノ末端ドメインの38-57番目のアミノ酸配列、特に42-49番目のアミノ酸配列付近に存在することが示唆されている²⁷⁾。また、モノクローン抗体を使った実験でも間接的ながらほぼ同様の結果が得られている^{28), 29)}。この部位をBIOCES[E]によって推定された立体構造で見ると、突出したターン部分にあたっている(図-6)。ポリオウイルスや風邪の原因ウイルスであるライノウイルスの表面タンパク質では、受容体タンパク質との結合部位は狭い裂け目(canyon)状の立体構造をとっており、gp120においても、同様のcanyonが存在し、このCD4の突出したターン部分の中に入り込むという結合様式が考えられる。

実際、このターン部分を含むアミノ酸配列をもつ合成タンパク質断片は、エイズウイルスのCD4に対する結合を阻害することが確かめられている³⁰⁾が、残念ながらこの合成タンパク質断片は生体内ではすぐに分解されてしまうため、その効果は低い。研究は、このターン部位を含む合成タンパク質断片を修飾、改変し、分解されにくく、より結合阻害能のある薬剤を開発する方向に進んでいる。

ここで残念なことは、エイズウイルス側のgp120については、実験的にも理論的にも立体構造が解析さ

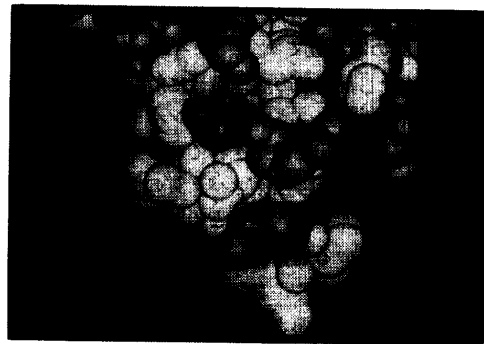


図-6 gp120 に対する CD4 の推定結合部位

れていないため、3. で述べたようなドッキングスタディの手法を用いることができない。CD 4 との結合過程に働く治療薬のデザインを推し進めていく上で、gp 120 の立体構造の解明が期待されている。

参 考 文 献

- 1) Akahane, K., Umeyama, H., Nakagawa, S., Moriguti, I., Hirose, S., Iizuka, K. and Murakami, K.: *Hypertension*, 7, 3 (1985).
- 2) Blundell, T. L., Sibanda, B. L., Sternberg, M. J. E. and Thornton, J. M.: *Nature* 326, 347 (1987).
- 3) 金子寛生, 曾根田雄一, 梅山秀明: 第 16 回構造活性相関シンポジウム講演要旨集, p. 336 (1988).
- 4) Tanimura, R. and Umeyama, H.: *Protein Engineering '89 abstract*, p. 131, Kobe (1989).
- 5) Nishikawa, K. and Ooi, T.: *Biochim. Biophys. Acta*, 871, 45 (1986).
- 6) Saito, N., Shigaki, T., Kobayashi, Y. and Yamamoto, M.: *Proteins*, 3, 119 (1988).
- 7) Bierer, B. E., Sleckman, B. P., Ratnofsky, S. E. and Burakoff, S. J.: *Ann. Rev. Immunol.*, 7, 579 (1989).
- 8) Sattentau, Q. J. and Weiss, R. A.: *Cell*, 52, 631 (1988).
- 9) Fauci, A. S.: *Science*, 238, 617 (1988); Levy, J. A., *Nature*, 333, 519 (1988).
- 10) McDougal, J. S., Kennedy, M. S., Slish, J. M., Cort, S. P., Mawle, A. and Nicholson, J. K. A.: *Science*, 231, 382 (1986).
- 11) Matthews, T. J. and Bolognesi, D. P.: *Scientific American*, p. 120 (Oct. 1988).
- 12) Yarchoan, R., Mitsuya, H. and Broder, S.: *Scientific American*, p. 110 (Oct. 1988).
- 13) Carney, D. P., Travers, P., Prosser, H. and Blundell, T.: *Protein Engineering '89 abstract*, p. 122, Kobe (1989).
- 14) 菰岡仁志, 梅山秀明: 第 12 回情報化学討論会講演要旨集, p. 184 (1989).
- 15) Umezawa, Y. and Umeyama, H.: *Chem. Pharm. Bull.*, 35, 4652 (1988).
- 16) Needleman, S. B. and Wunsch, C. D.: *J. Mol. Biol.*, 48, 443 (1970).
- 17) 金岡昌治, 岸本文貴, 植木靖久, 梅山秀明: 第 15 回構造活性相関シンポジウム講演要旨集, p. 262 (1987).
- 18) 植木靖之, 梅山秀明: 日本薬学会第 107 年会講演要旨集, p. 160 (1987).
- 19) Kubota, Y., Nishikawa, K., Takashi, S. and Ooi, T.: *Biochim. Biophys. Acta*, 701, 242 (1982).
- 20) 滝中 徹, 梅山秀明: 第 15 回構造活性相関シンポジウム講演要旨集, p. 354 (1987).
- 21) 谷村隆次, 梅山秀明: 第 17 回構造活性相関シンポジウム講演要旨集, p. 300 (1989).
- 22) Ponder, J. W. and Richards, F. M.: *J. Mol. Biol.*, 193, 775 (1987).
- 23) 植木靖之, 梅山秀明: 第 16 回構造活性相関シンポジウム講演要旨集, p. 336 (1988).
- 24) Singh, U. C., Brown, F. K., Bash, P. A. and Kollman, P. A.: *J. Am. Chem. Soc.*, 109, 1607 (1987).
- 25) Akahane, K., Kamijo, K., Iizuka, K., Taguti, T., Kobayashi, Y., Kiso, Y. and Umeyama, H.: *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 3447 (1988).
- 26) Mizukami, T., Fuerst, T. R., Berger, E. A. and Moss, B.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85, 9273 (1988); Landau, N. R., Warton, M. and Littmann, D. R., *Nature*, 334, 159 (1988) 他多数.
- 27) Peterson, A. and Seed, B.: *Cell*, 54, 65 (1988).
- 28) McDougal, J. S., Nicholson, J. K. A., Cross, G. E., Cort, S. P., Kennedy, M. S. and Mawle, A. C.: *J. Immunol.*, 137, 2937 (1986).
- 29) Sattentau, Q. J., Dalglish, M. S., Weiss, R. A. and Beverley, P. C. L.: *Science*, 234, 1120 (1986).
- 30) Jameson, B. A., Rao, P. E., Kong, L. I., Haln, B. H., Shaw, G. M., Hood, L. E. and Kent, S. B. H.: *Science*, 240, 1335 (1988).

(平成 2 年 6 月 14 日受付)