

## 分子置換法における並進関数の諸問題

東 大 薬 原 田 義 則

パリ第6大 Alain LIFCHITZ, Jean BERTHOU

Yoshinori HARADA, Alain LIFCHITZ and Jean BERTHOU : On the Translation Functions in the Molecular Replacement Method

The molecular replacement method consists of the three consecutive stages : (1) determination of the orientation of the molecule in the crystal, (2) determination of the position of the molecule and (3) solution of the phase problem.

The problem in the first stage was solved almost satisfactorily by using the rotation function first developed by Rossmann and Blow and recently improved by Crowther.

In the second stage, the problem was not always solved satisfactorily because of several theoretical and/or computational drawbacks inherent to the translation function.

Lack of efficient translation functions of universal applicability prevented the potentially much more powerful molecular replacement method from being popular in the structure determinations of macromolecules.

A case of a known model structure is discussed, considering the origins of inefficiency of the translation functions proposed so far, and a new powerful translation function which is highly efficient in computation is proposed. [J. Cryst. Soc. Japan, 22, 358 (1980)].

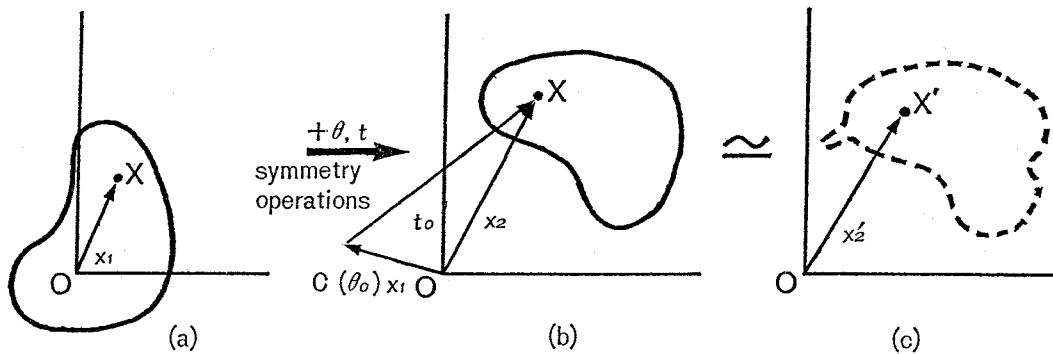
## 1. はじめに

一般に結晶構造の非対称単位中に複数個の同一構造単位が含まれる場合、この結晶より得られる回折データ中には、その単位構造に関する情報が過剰に存在するので、構造単位間の非結晶学的対称等の利用を通じて、構造因子の位相を決定し得る事が証明されている<sup>1)</sup>。

この解析法は、分子置換法(以下、MR法と略記)と呼ばれ、通常(i)分子の対称や配向を取り扱う回転問題、(ii)分子間の相対位置ないしは単位胞中における分子の絶対位置の決定に関する並進問題、及び(iii)配向、位置が相対的に決定されている場合の位相方程式問題、の三段階の問題の解決が必要である<sup>2)</sup>。

解析の対象としては、分子のサイズ、分解能等に何ら本質的な制限はないが、従来、多重々原子同形置換法(以下、MIR法と略記)の適用が諸々の事情で困難な場合等、専ら、生体高分子の解析に用いられてきた。

しかし、このMR法は常に強力な解析法だったとは言い難く、*ab initio*に解析に成功した例としては(筆者の知り得る範囲では)僅かにウィルスの二例が知られているに過ぎない<sup>3,4)</sup>。その主たる原因は、並進問題の解決に用いられる関数：並進関数が、回転問題の場合の回転



第1図 モデル構造既知の場合の分子置換法の原理

- (a) 結晶1中のモデル構造  
 (b) 結晶2中で適当な回転と並進とを施されたモデル構造  
 (c) 結晶2中の未知構造

関数<sup>5)</sup>(以下,  $R(\theta)$ と略記)の様には十分に機能しなかったためである.  $R(\theta)$ に関しては田中信夫氏による詳報を参照されたい<sup>6)</sup>.

一方, 未知結晶構造中の構造単位のフラグメントないしはモデルの構造が, 既知の場合についてもMR法は応用でき, 本稿では, この様な場合について述べる.

ここに, その原理の概略を説明する.

第1図(c)の様な未知構造のモデル構造として(a)が考えられたとする. これに対し, 分子の配向と位置とを定める3つずつ計6つの独立な変数による回転:  $C(\theta)$ と並進:  $t$ の操作を施せば, 構造(b)が得られるが,  $\theta$ と $t$ とが適当な値,  $\theta = \theta_0$ ,  $t = t_0$ をとる時, (b)は(c)の近似構造といえる. この時, 等価な点の間の関係は次式で表わされる.

$$C(\theta_0)x_1 + t_0 = x_2 \approx x_2' \quad (1)$$

- $x_1$ : モデル構造の座標 (既知)  
 $x_2$ : 回転, 並進操作を施された後の $x_1$   
 $x_2'$ : 未知構造の座標  
 $C(\theta_0)$ :  $\theta_0$ を変数とする回転の行列  
 $t_0$ : 並進ベクトル

ここで問題となるのは, いかにして $\theta_0$ ,  $t_0$ を求めるかである.  $x_1$ が既知で $x_2'$ のモデルとして適当ならば, 固有な回転と並進の操作(今の場合 $\theta_0$ ,  $t_0$ )によって得られる $x_2$ による $x_2'$ の近似は良好となる筈であるから,  $x_2$ と $x_2'$ の近似度を $\theta$ と $t$ の関数として表現し, その値を最大にする $\theta$ ,  $t$ を見出せば良い. この関数は一般には6次元の関数であるが, 実際的には, 2つの3次元関数: 回転関数と並進関数とに分離され得る. ところが, 今,  $x_2'$ は未知なのだから $x_2$ と $x_2'$ の近似度を直接見積る事はできない. そこで, 我々は $x_2'$ の情報を含む観測量と, それに対応する $x_2$ からの計算量との近似度を見積らねばならない.

このMR法の発想は, 1950年代より, パターソン関数空間中で, 分子フラグメントの配向とその単位胞の原点に対する位置決定の方法ですでに使われており<sup>7)</sup>, これは, 部分構造情報の全体構造解析への応用の一方法として位置付けられていた. 即ち, 特に, 生体高分子を対象とした解析法ではなかった.

ところで, RossmannとBlowの $R(\theta)$ に代表される一連の $R(\theta)$ は充分強力で, 数多くの成功例が知られている. しかし一方, 並進問題に関しては様々な並進関数が提案されて来たが, 常に高い評価を受けているものはなく, それがMR法の発展を妨げている事はモデ

ル構造未知の場合と同様である。

第4節で述べる様な事情により、モデル構造既知の場合のMR法の進展が今後期待できるので、ここでは、その場合の並進問題についてさらに議論を進め、新たな高速並進関数を定義する。

## 2. 並進関数法の歴史と問題点

前節でも述べた様に部分構造あるいはモデル構造既知の場合、それらの情報をその未知構造の決定に利用しようとするのは、特に目新しい発想ではない。例えば、HodgkinらはVB<sub>12</sub>の全構造決定を重原子法で行なうに際し、前段階として、まずコリン骨格のみの構造決定を行ない、その構造をVB<sub>12</sub>の不明瞭な電子密度図の解釈の手助けとした<sup>7)</sup>。しかし、この場合は、部分構造情報を補助的に利用したに過ぎない。

ここでは、その積極的利用の歴史についてふれてみる。

(1) 1940年代には、EwaldやKnott<sup>8)</sup>により、分子のフーリエ変換法が開発された。これは単離した分子構造より直接計算される分子のフーリエ変換(分子構造因子):  $F_m$ 、及び、結晶構造因子:  $F_c$ を逆格子空間中で回転させ、各格子点上で $F_m$ 及び $F_c$ の値と対応する $F_0$ の値とを比較し、分子の配向と位置とを決定する方法であり、Klugによる平面分子に対する応用例等がある<sup>9)</sup>。

(2) 1956年、VandとPepinskyは $\{F_0^2\}$ と $\{|F_c|^2\}$ の内積タイプの関数を提唱<sup>10)</sup>。

(3) 1959年、Buergerはパターン関数空間における一連の求像関数(積関数、最小値関数、和関数)を提案した<sup>11)</sup>。

(4) 1963年には、NordmanとNakatsuが上記最小値関数を修正し、単位胞中で回転し、並進した既知の部分構造から生成される「部分パターン関数」を、観測値より算出されたパターン関数に重ね合せ、最適な回転角度、並進距離を求め、部分構造に対し、その変換を施した後の座標をもとに、あるアルカロイドの全体構造を決定したが<sup>12)</sup>、これが、組織立った方法による部分構造情報の最初の積極的利用及び成功例といえる。

(5) 1964年には、RossmannとBlowが非対称単位中に存在する2つの副単位間の相対位置を、副単位内の何らの構造的知見をも用いずにパターン関数空間内で、決定する方法を提出した<sup>13)</sup>。

(6) 同年、TollinとCochranが3次元関数であるQ関数を提案した<sup>14)</sup>。この関数は、概念的にはBuergerの和関数の特殊な場合に当り、既知部分が平面構造を持つ場合に適用できる。

(7) Tollinは1966年には、モデル分子の対称要素に対する相対的な位置を決定する2次元関数である修正Q関数を提唱した<sup>15)</sup>。これらの関数によるいくつかの解析例が知られている<sup>16)</sup>。

(8) CrowtherとBlowは、1967年にモデル構造から計算されるパターン関数:  $P_c(u, t)$ と観測された $F_0$ より算出されるパターン関数:  $P_0(u)$ との相関:  $\int_V P_c(u, t) \cdot P_0(u) du$ を見積る事により、既知構造部分の結晶内における位置を決定しようとした。彼らは、この計算をベクトル空間中に行なわずに、同等の計算を逆空間で行なおうとした。その式は $\{F_0^2\}$ と $\{|F_c|^2\}$ の相関を示すものである。実際には、その近似式をもって並進関数としたが<sup>17)</sup>、この方法は、後にTollinにより彼の修正Q関数と数学的に同等である事が証明され<sup>18)</sup>、今まで、最も数多く蛋白質の解析等に適用されて来た<sup>19, 20)</sup>

(9) パターソン空間中で、観測値と計算値の一致度を両者の差を調べる事により、直接見積ろうとした関数として、1965年のHuberの並進関数が挙げられる<sup>21)</sup>。

(10) 1972年、Karleは直接法の補助的手段としての並進関数 $D(t)$ を定義している<sup>22)</sup>。これには二つの目的があり、一つは、構造既知部分の与える位相情報を直接法による位相決定の過程に取り込もうとするものであり、もう一つは、直接法特有な擬似解(ホモメトリック構造)から抜け出るためのものであった。

(11) 1976年、NixonとNorthは通常使われる解析の信頼度因子 $R$ をモデル構造の並進 $t$ の関数とし、巧妙な計算手順により、その計算の高速化を図った<sup>23)</sup>。

(12) 同年、HendricksonとWardは蛋白質分子を剛体と近似し、それに並進操作を施した際に生ずる分子間接触とか陥入を検出する関数をもって並進関数とし、一応の成功を収めた<sup>24)</sup>。この様な一種のパッキング解析については、その他、諸々の方法(半経験的エネルギー関数を使用するもの等)が提唱されているが、ここでは詳細に立ち入らない。

以上が、並進関数法の大まかな歴史であるが、ここ数年来、特に直接法の理論の発展と電子計算機の処理速度の著しい向上等により、低分子の解析におけるMR法、なかんずく、部分構造情報の活用はほとんど必要とされなくなったが、特別な場合以外、今後もこの傾向は続くものと思われる。現在、MR法の対象は直接法の能力以上の解析、さらにはMIR法の適用に困難がある場合等に移行している。

各関数による解析例は逐一示されなかったが、皆それぞれ、一応の成果を上げている。しかし、これら十指に余る関数は、その数の多さが示す通り、いずれもが、何らかの不備な点を持つと考えられる。以下、これらの関数を、いくつかの観点から検討してみる。

まず、その関数が実、逆、いずれの空間中で計算されているかにより分類する。(1), (3), (4), (5), (9), (12)で説明した関数は実、またはベクトル空間での(2), (6), (7), (8), (10), (11)のそれは逆空間での解析的表現をとっている。一般に、一方の空間での何らかの制約は、他方の空間にも何らかの影響(制約)を及ぼすので、上記の分類は計算技術上の便宜的なもので、二つの解法の間には本質的な差はない筈であるが、二つの制約の間には、必ずしもフーリエ変換操作により結び付けられる関係ではなく、場合によっては、一方で解析的表現が存在しても、他方では同等な解析的表現の存在しない事がある。例えば(9)のHuberの関数は、パターソン関数空間中で分子及び結晶構造のコンポリューションの最適配向、位置探索の方法であるが、このHuberの関数のフーリエ変換は存在せず、従ってこれは、逆空間中で同等の内容を持つ解析的表現を持たない。実空間中で計算されるほとんどの並進関数は、この「不完全な」性質を持っている。

一方(11)の様な信頼度因子タイプの並進関数では、その逆空間での制約が実空間にも勿論、何らかの制約となって現われる筈だが、そのフーリエ変換は持ち得ず、実空間でどういった「関数」なのか、そのイメージが判然としない。

ところで、CrowtherとBlowの提唱した関数の原形は、両空間内での意味合を明確に持つ初めてのものであった。ところが、彼らはその式通りの計算は厩大過ぎるといった理由によりその大胆な近似式をもって並進関数と定義した事は既に述べた。

実際、観測されるものは $\{F_0\}$ と言う逆空間的の量であり、解析されるべきは実空間における構造なのであるから、両空間中での制約情報を比較検討する事の重要性は自明である。

即ち、逆空間中での計算の結果得られる解は必ずしも、実空間での制約を満たすとは限らないし、また、逆も真なので、両空間中での情報を共に考慮に入れ、より信頼の置ける解を

求めるべきなのである。

二つ目の問題点は計算速度である。いずれの方法も、並進ベクトル： $t=(t_x, t_y, t_z)$ の刻みが細かになればなる程、計算量の増大する事に変わりはないが、各々の $t$ での関数の値の計算に要する時間には大きな差がある。これまでは、関数の値を $t$ の個々の点において直接計算する方法が支配的であったが、当然の帰結として分子のサイズ、単位胞の寸法の大きなものへの応用は困難であった。従って、数を制限されたデータ、例えば大きな値を持つ $F_0$ のみを扱うといった便法が取られたが、それは分子の位置に関する情報が、逆空間全域に渡って分布している事実と相容れない標本抽出法であるがゆえに、SN比の劣化、擬似解の存在を招いた筈である。

筆者らは、特に以上の二点を改善した新しい並進関数を開発したので<sup>25,26)</sup>、次節ではその理論と応用について述べる。

### 3. 新しい高速並進関数

#### 3.1. 理論

構造未知の結晶からは、観測量として $\{F_0(\mathbf{h})\}$ が得られる。一方その格子中で適当に回転させ $(\theta_0)$ 、任意に並進させた $(t)$ 充分信頼に足る構造既知(ないしは仮定)の分子モデルにその結晶の対称操作を施せば $t$ の関数である、ある仮想的な結晶構造を構築でき、これより $\{F_c(\mathbf{h}, t)\}$ が算出される。この時、2集合 $\{F_0(\mathbf{h})\}$ と $\{F_c(\mathbf{h}, t)\}$ の相関を大きくする $t$ に対応する結晶構造が、未知構造の近似解であると期待できる。ところが $\{F_0(\mathbf{h})\}$ は実数の集合であるのに対し $\{F_c(\mathbf{h}, t)\}$ は複素数の集合であるので、代りに、各要素の絶対値を2乗した2集合 $\{F_0^2(\mathbf{h})\}$ と $\{|F_c(\mathbf{h}, t)|^2\}$ との相関を調べる事にする。この結果、同値関係はくずれ、結晶構造の一義的な解の得られない可能性が生ずるので、それについては注意を払う必要がある。

2集合間の相関を調べるためには、両集合間の尺度の不一致に影響されない相関係数を計算する事が最も妥当である。上記の2集合については $t$ の関数となる(2)式が得られる。

$$c(t) = \frac{\sum_{\mathbf{h}} F_0^2(\mathbf{h}) |F_c(\mathbf{h}, t)|^2}{\left\{ \sum_{\mathbf{h}} F_0^4(\mathbf{h}) \right\}^{1/2} \left\{ \sum_{\mathbf{h}} |F_c(\mathbf{h}, t)|^4 \right\}^{1/2}} \quad (2)$$

$$= \frac{\int_V P_0(\mathbf{u}) P_c(\mathbf{u}, t) d\mathbf{u}}{\left\{ \int_V P_0^2(\mathbf{u}) d\mathbf{u} \int_V P_c^2(\mathbf{u}, t) d\mathbf{u} \right\}^{1/2}} \quad 0 \leq c(t) \leq 1 \quad (2')$$

$c(t)$ を最大にする $t=t_0$ を(1)式に代入すれば、未知結晶中での分子の近似的な原子座標、さらには位相が求まり、それらのパラメータを基に、構造の精密化を進める事が期待できる。しかし、(2)式の表現通りの計算は歴大であり実用に適さないので、右辺を $t$ の逆指数である $p$ により、フーリエ展開して、離散フーリエ級数とする事により計算の著しい高速化を図った。(2)式は単位胞の寸法に関して周期関数であり、またすべての $t$ において連続なのでそれが可能である。しかし、一段階でのフーリエ展開 $\left( c(t) = \sum_p Q(p) \exp(-2\pi i p \cdot t) \right)$ は解析的表現が煩雑に過ぎるので

$$c(t) = \frac{\sum_p^S Q_1(p) \exp(-2\pi i p \cdot t)}{k \sum_p^S Q_2(p) \exp(-2\pi i p \cdot t)} \quad (3)$$

の様に, 分子分母をそれぞれフーリエ展開し(付録参照), 計算される二つのフーリエ図の間で割算を行なう, 二段階での計算をした。

実際には(2)式の分母第2項  $\left\{ \sum_h^S |F_c(h, t)|^4 \right\}^{1/2}$  の代わりにその第1近似式であり, 物理的意味合を極めて明確に持つ関数:  $O(t) = \sum_h^S |F_c(h, t)|^2$  を使用し, ここに, 並進関数

$$T(t) = \frac{TO(t)}{O(t)} = \frac{\sum_h^S F_0^2(h) |F_c(h, t)|^2}{\left\{ \sum_h^S F_0^4(h) \right\}^{1/2} \sum_h^S |F_c(h, t)|^2} \quad (4)$$

が定義された。

関数  $O(t)$  は次節で説明する様に, モデル分子の並進により, 結晶中に生ずる電子分布関数の仮想的重なりを検出し, その度合を見積る事ができる。ところで(2)式の分子は  $\{F_0^2(h)\}$  と  $\{|F_c(h, t)|^2\}$  の内積であるから, 両集合が相似である場合には大きな値をとる(逆は真ならず)。即ち, 親和度の目安であるのに対し, 上記の通り分母は結晶パッキングの合理性を示す量であり, 分子モデルが合理的に配列している場合小さな値をとる。ゆえに(4)式は定性的に,

$$T(t) = \frac{\{F_0^2(h)\} \text{ と } \{|F_c(h, t)|^2\} \text{ の相似性}}{\text{仮想結晶中の電子密度の重なるの程度}} \quad (4')$$

と表現でき, 分子, 分母に当る個別の関数よりも強力な並進関数であると期待される。

### 3.2. 重なり関数の性質

外で0, 内で  $\mu$  なる値をとる仮想的電子密度分布関数:  $\rho_m(x)$  を単離された仮想分子の外形関数とすると, 1次元格子中に鏡面对称で関係づけられる2分子が分離して存在する結晶構造は, 第2図(a)左で表現される。(b)左図は, この分子に並進操作を施した結果, 部分的に電子密度の重なりが生じた場合を示している。いずれの場合にも,

$$\begin{aligned} \rho_x(x) &= \rho_m(x) + \rho_m(x') \\ x' &= a - (x+t) \end{aligned} \quad (5)$$

であり,

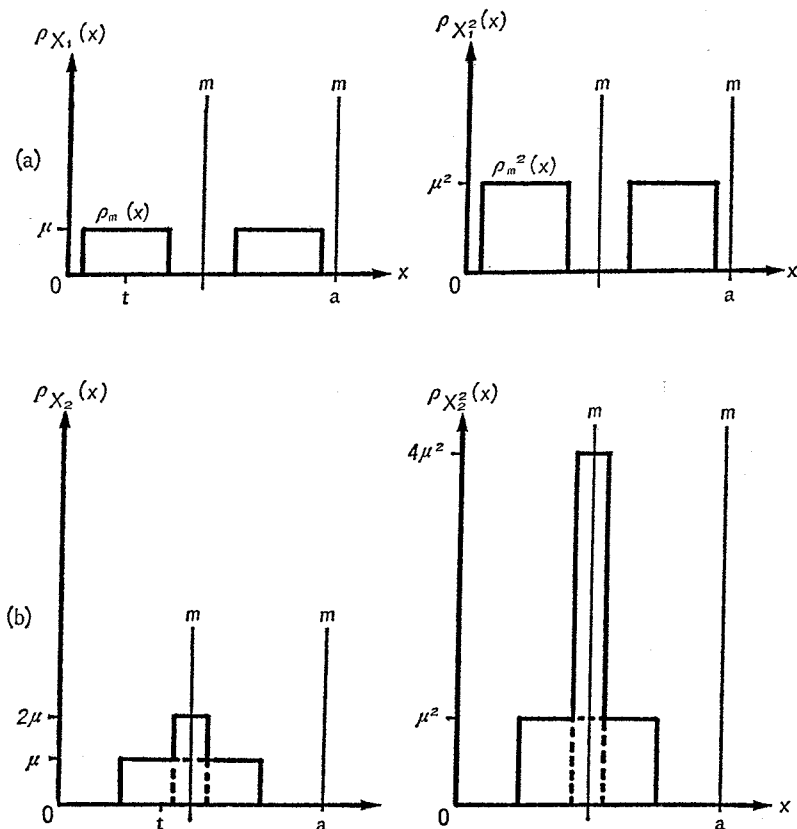
$$\int_0^a \rho_{x1}(x) dx \equiv \int_0^a \rho_{x2}(x) dx \quad (6)$$

が成立する。ここで,  $\rho_x^2(x)$  及びその積分を考察してみる。

$$\rho_x^2(x) = \rho_m^2(x) + \rho_m^2(x') + 2\rho_m(x) \cdot \rho_m(x') \quad (5')$$

$$\begin{aligned} \int_0^a \rho_x^2(x) dx &= \int_0^a \rho_m^2(x) dx + \int_0^a \rho_m^2(x') dx + 2 \int_0^a \rho_m(x) \cdot \rho_m(x') dx \\ &= \text{定数} + 2 \int_0^a \rho_m(x) \rho_m(x') dx \end{aligned}$$

なので,  $\int_0^a \rho_x^2(x) dx$  は, 仮想分子の並進に関して保存されず, 今の場合  $\int_0^a \rho_{x1}^2(x) dx < \int_0^a \rho_{x2}^2(x) dx$  が成立し, 一般的には,



第2図 重なり関数の模式的説明.  $\rho_m(x)$  はモデル分子の外形関数 (仮想的電子密度分布関数).  $\int_0^a \rho_m(x) dx = S_1$ ,  $\int_0^a \rho_m^2(x) dx = S_2$  とすると  $\int_0^a \rho_x(x) dx = \int_0^a \{\rho_m(x) + \rho_m(x')\} dx \equiv 2S_1$  で  $t$  に拘らず一定だが,  $\int_0^a \rho_x^2(x) dx$  は  $t$  に依存し,  $2S_2$  から  $4S_2$  迄変動する. (a) 電子密度の分子間重なりが全く無い場合  
(b) 部分的にある場合

$$2 \int_0^a \rho_m^2(x) dx \leq \int_0^a \rho_x^2(x) dx \leq 4 \int_0^a \rho_m^2(x) dx \quad (6')$$

なる不等式が成立する. 左辺は2分子が完全に分離して, 電子密度の重なりが全く無い場合の値であり, 右辺は完全に重なった場合 ( $x=x'$ ) の値である. 即ち, 式(6')の中央の式は並進操作にのみ依存した関数で, 分子間の電子密度の重なりを度を示す.

Parseval の等式  $\int_0^a \rho_m^2(x) dx = \frac{1}{a^2} \sum_h |\mathbf{F}_m(h)|^2$  を(6')に適用すると, 同等な不等式として

$$2 \sum_h |\mathbf{F}_m(h)|^2 \leq \sum_h |\mathbf{F}_c(h, t)|^2 \leq 4 \sum_h |\mathbf{F}_m(h)|^2$$

が得られる.  $t$  に依存しない正の定数:  $2 \sum_h |\mathbf{F}_m(h)|^2$  で, 上式を割ると,

$$1 \leq \frac{\sum_h |\mathbf{F}_c(h, t)|^2}{2 \sum_h |\mathbf{F}_m(h)|^2} \leq 2$$

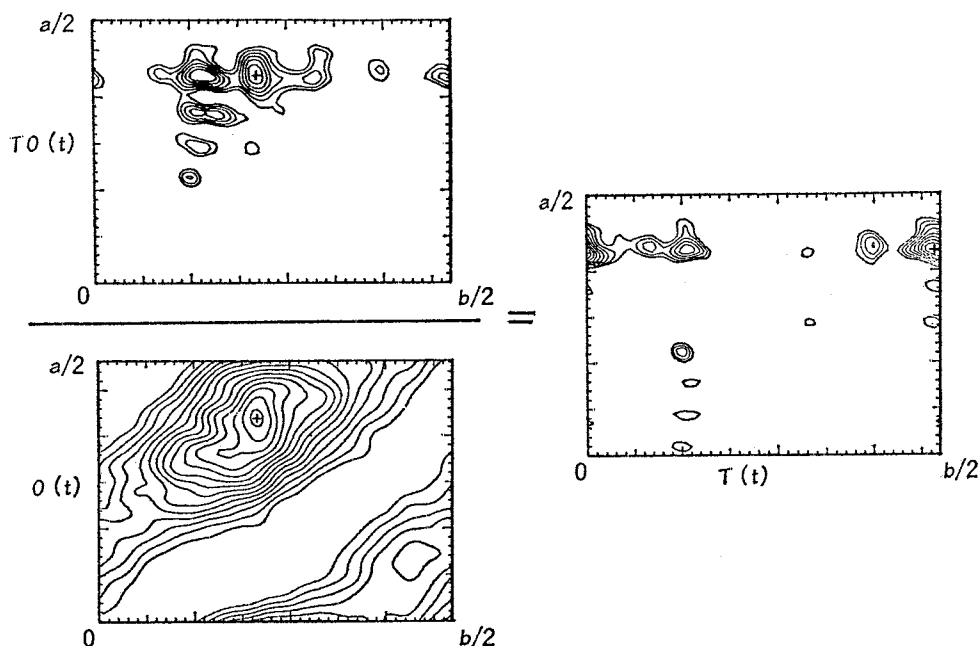
が得られ, 中央の式を重なり関数と呼ぶ事にする.

この議論は, 一般の3次元電子密度分布関数:  $\rho_m(\mathbf{x})$  に対しても適用でき, 単位胞中に  $N$ .

個の単位構造がある場合には,  $1 \leq O(\mathbf{t}) \leq N$  なる不等式が成立する. この様に  $O(\mathbf{t})$  は, 仮想結晶構造の自己相関を表わす関数であるが, 見方を変えれば立体障害を表わす関数で, モデル分子が結晶格子中で存在し得る領域を検出する.

### 3.3. 応用例

我々は, この  $T(\mathbf{t})$  を温度依存性の結晶多形を示す鶏卵白リゾチームの高温形結晶<sup>27)</sup>の解析に応用して, 良好な結果を得た. 同蛋白質の低温形結晶の解析<sup>28)</sup>の結果与えられた原子座標(分子構造)をもとに, 高温形結晶格子中に, モデル分子の格子原点に対する位置:  $\mathbf{t}$  を変数とする仮想的結晶構造を構築し, 式(4)を見積った. なお, 分子の配向は, あらかじめ Crowther により高速化された Rossmann と Blow の  $R(\theta)$  で決めておいた. また, 実際に



第3図 鶏卵白リゾチームの6Å分解能のデータを用いた3並進関数:  $TO(\mathbf{t})$ ,  $O(\mathbf{t})$ ,  $T(\mathbf{t})$  の一断面 ( $t_z=1/32$ ). 図全体が  $TO(\mathbf{t})/O(\mathbf{t})=T(\mathbf{t})$  を表わしている. +印は, それぞれの断面での最大値を示す.  $TO(\mathbf{t})$  と  $O(\mathbf{t})$  のそれが同一位置にあり  $T(\mathbf{t})$  のそれとは一致しない事に注意

第1表 鶏卵白リゾチームの結晶二形のパラメータ

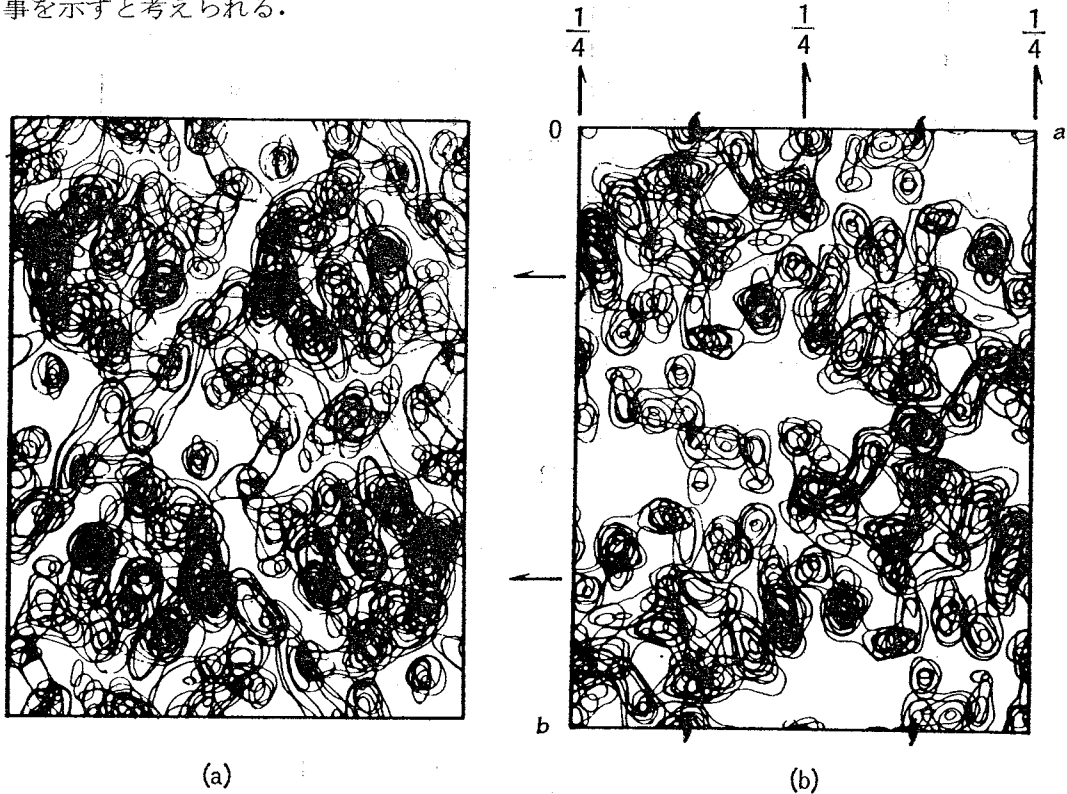
	低温形	高温形
結晶化温度	<25°C	>25°C
空間群	$P4_32_12$	$P2_12_12_1$
a	79.1Å	56.4Å
b	79.1Å	73.8Å
c	37.9Å	30.4Å
Z	8	4
含水量 (w/w)	33.5%	36%
非対称単位中の非水素原子数	1001 (129 残基)	
高温形結晶中において低温形分子に施される回転のオイラー角	$\theta_0 = (240^\circ, 67^\circ, 35^\circ)$	
同並進成分	$t_0 = (0.89, 0.98, 0.53)$	

は  $T(t)$  の計算中、両結晶間の温度因子の不一致を補正するために  $F_0, F_c$  の代りに、規格化構造因子  $E_0, E_c$  を用いた。両結晶形の結晶データ等を第1表に、第3図には  $TO(t), O(t)$  及び  $T(t)$  の一断面を示す。これらはすべて  $6\text{\AA}$  分解能の回折データ約800反射を用いて計算され、各々のフーリエ図を算出するのに IBM 370/168 で10秒前後を要したに過ぎない。

+印は、それぞれの関数が、最大値をとる位置を示す。 $TO(t)$  単独では識別できない  $TO(t)$  中の波長の長い変調波を  $O(t)$  が除去し、最適  $t$  と目された  $TO(t)$  のピークが、実は偽のピークである事が分かる。第1表に  $t_0$  を示す。

第4図は、2種の異なった位相のつけ方による同分解能の電子密度図の  $c$  軸投影図である。(a)は、全く独立に行なわれた2重原子誘導体を用いた同形置換法によるもので、 $\langle m \rangle = 0.66$ 。(b)は、上記  $T(t)$  上のピークに対応する  $t_0$  をモデル分子に施し、得た位相を  $F_0$  に与えて算出された。

(a)にノイズが多く、また、(a), (b)間に分解能の半分程度の分子位置のずれが見出されるが、一見して(a)と(b)とは似ている事が認められる。この事は、(i)  $R(\theta)$  及び  $T(t)$  が正常に機能し、理論の正当性が確認された事、(ii) 両結晶形中において、分子構造上大きな差異の無い事を示すと考えられる。



第4図 二つの独立な解析から得られた  $6\text{\AA}$  分解能の電子密度図 ( $c$  軸投影).  
等高線の範囲、間隔は任意.  
(a) 2重原子同形置換法によるもの、 $\langle m \rangle = 0.66$   
(b) 分子置換法により得られた位相を高温形結晶の  $F_0$  に与えた場合

#### 4. 展 望

分子置換法は、副単位間ないしはモデル分子と未知結晶構造中の分子との間に、構造上の差異の無い事を前提としている。しかしそれは、あくまでも理想的な場合であり、高分解能で微細構造を論ずる場合には程度の違いこそあれ、差異が問題となるし、知りたいのは真に

その点である。即ち、この方法は自己矛盾を含んでいる。ここに、MR法はそれ単独では必然的に低分解能の構造の解析、精密化のための方法であり、高分解能での解析、特に精密化には不向きである事が分かる。

ところで、低分子のX線構造解析は直接法等の強力な解析法の発展により、解析初期において部分構造の情報はあまり必要が無くなった。また、高分子、ウィルス等については、現段階の直接法では解析は不可能と考えられていて、MIR法の適用が圧倒的であり、将来に亘っても、これは正攻法として解析手段の中で重要な位置を占めるであろう。

しかし、TMVのディスク蛋白の様に、非結晶学的な対称と超巨大な分子量を非対称単位中に含むものの解析については、MIR法単独では良質の電子密度図が得られないため、MR法との併用による電子密度の平均化法が成功を収めている<sup>29)</sup>。

一方、二十年來の蛋白質、核酸の構造解析の諸結果は、(i)同一ないしは類似機能を有する蛋白質間の種を通じた3次構造の相似性の存在(例えば各種ヘモグロビン)、(ii)1分子中の副単位構造、3次構造が類似したドメイン構造の存在等、分子進化に関連した知見を与えた。MIR法では、これらの情報を電子密度図の解釈の段階では利用できても、解析の初期の段階では全く利用できない。また、微妙な結晶化条件の変化による結晶多形の場合とか、構造既知の分子同士が複合体を形成する場合等、大まかな分子構造の保存が期待できる場合でも、すべてを全く独立に解析せねばならない。ところが、MR法によれば以上のような場合はもとより、(i)、(ii)の構造に関する情報を活用する事により、同族体分子の構造を、より「簡便に」解析する事が可能である。

ところで、ここで述べた新しい $T(t)$ については、いかなるモデル分子の外形、電子密度分布に対してでも適用可能なので、いわゆるモデル構造を本質的に必要とする訳ではない。即ち、極く粗い位相を得るためには、例えば球状の電荷分布をもって分子の第1近似モデルとする事もできる。 $T(t)$ をこのモデルに適用し $t_0$ を求め、それから求められた粗い位相を $F_0$ に与える事により算出される分子の電子密度分布は、当然、球対称よりずれるが、「適当に」分子の境界を設定する事により、第2次近似モデルを構築できる。このモデル構造 $\rightarrow \theta_0$ 、 $t_0$ の精密化 $\rightarrow \dots$ といった手順をくり返す事により、低分解能ではあっても信頼の置けるモデル、さらに分子の境界設定の段階で、部分的にでも既知構造情報を取り込めば、より高分解能での全体構造を得る事ができると期待される。

終りに本稿を起草するに当り熱心に討論に加わり、表現についての御教示を頂いた東大薬学部の飯高教授に感謝致します。

## 付 録

$\sum_h |F_c(\mathbf{h}, t)|^2$  と  $\sum_h F_0^2(\mathbf{h}) |F_c(\mathbf{h}, t)|^2$  のフーリエ展開

$$\begin{aligned} F_c(\mathbf{h}, t) &= \sum_{j=1}^N F_m(\mathbf{h}A_j) \exp\{-2\pi i \mathbf{h} \cdot (\mathbf{d}_j + A_j t)\} \\ &= \sum_{j=1}^N F_m(\mathbf{h}A_j) \exp(-2\pi i \mathbf{h} \cdot \mathbf{d}_j) \exp(-2\pi i \mathbf{h} A_j t) \end{aligned}$$

ここで、 $F_m$  : 分子のフーリエ変換 (分子構造因子)

$A_j$  : 結晶の  $j$  番目の対称操作の回転行列

$\mathbf{d}_j$  : 同 並進ベクトル

$|F_c(\mathbf{h}, t)|^2 = F_c(\mathbf{h}, t) F_c^*(\mathbf{h}, t)$  なので

$$\sum_{\mathbf{h}} |F_c(\mathbf{h}, \mathbf{t})|^2 = \sum_{\mathbf{h}} \sum_{j=1}^N \sum_{k=1}^N F_m(\mathbf{h}A_j) F_m^*(\mathbf{h}A_k) \exp\{-2\pi i \mathbf{h} \cdot (\mathbf{d}_j - \mathbf{d}_k)\} \exp\{-2\pi i \mathbf{h}(A_j - A_k) \mathbf{t}\}$$

$$\text{ここで } \begin{cases} Q_{jk}(\mathbf{p}) = F_m(\mathbf{h}A_j) F_m^*(\mathbf{h}A_k) \exp\{-2\pi i \mathbf{h} \cdot (\mathbf{d}_j - \mathbf{d}_k)\} \\ \text{if } \mathbf{p} = \mathbf{h}(A_j - A_k) \\ Q_{jk}(\mathbf{p}) \equiv 0 \\ \text{if } \mathbf{p} \neq \mathbf{h}(A_j - A_k) \end{cases}$$

と置くと,  $Q_{jk}(\mathbf{p})$  の性質として,  $Q_{jk}(-\mathbf{p}) = Q_{jk}^*(\mathbf{p}) = Q_{kj}(\mathbf{p})$ , よって

$$\sum_{\mathbf{h}} |F_c(\mathbf{h}, \mathbf{t})|^2 = \sum_{\mathbf{h}} \sum_{j=1}^N |F_m(\mathbf{h}A_j)|^2 + 2 \operatorname{Re} \left[ \sum_{\mathbf{p}} \sum_{j>k}^{S' N N-1} Q_{jk}(\mathbf{p}) \exp(-2\pi i \mathbf{p} \cdot \mathbf{t}) \right]$$

が成立する. 右辺第1項は  $\mathbf{t}$  に独立であり,  $S'$  の半径は最大限  $S$  のその2倍である.

同様に  $F_m(\mathbf{h})$  の代りに  $F'_m(\mathbf{h}) = F_0(\mathbf{h}) F_m(\mathbf{h})$  を置けば

$$\sum_{\mathbf{h}} F_0^2(\mathbf{h}) |F_c(\mathbf{h}, \mathbf{t})|^2 = \sum_{\mathbf{h}} \sum_{j=1}^N |F'_m(\mathbf{h}A_j)|^2 + 2 \operatorname{Re} \left[ \sum_{\mathbf{p}} \sum_{j>k}^{S' N N-1} Q'_{jk}(\mathbf{p}) \exp(-2\pi i \mathbf{p} \cdot \mathbf{t}) \right]$$

## 文 献

- 1) G. Bricogne : Acta Cryst. **A 30**, 395 (1974).
- 2) *The Molecular Replacement Method* edited by M. G. Rossmann, New York ; Gordon and Breach (1972).
- 3) A. Jack : Acta Cryst. **A 29**, 545 (1973).
- 4) J. E. Johnson, T. Akimoto, D. Suck, I. Rayment and M. G. Rossmann : Virology, **75**, 394 (1976).
- 5) M. G. Rossmann and D. M. Blow : Acta Cryst. **15**, 24 (1962).
- 6) 田中信夫 : 日本結晶学会誌, **19**, 277 (1977).
- 7) P. G. Lenhert and D. C. Hodgkin : Nature **192**, 937 (1961).
- 8) G. Knott : Proc. Phys. Soc. (London) **52**, 229 (1940).
- 9) A. Klug : Acta Cryst. **3**, 165 (1950).
- 10) V. Vand and R. Pepinsky : Z. Kristallogr. **108**, 1 (1956).
- 11) M. J. Buerger : *Vector Space*, New York ; John Wiley and Sons (1959).
- 12) C. E. Nordman and K. Nakatsu : J. Am. Chem. Soc. **85**, 353 (1963).
- 13) M. G. Rossmann and D. M. Blow : Acta Cryst. **17**, 1474 (1964).
- 14) P. Tollin and W. Cochran : Acta Cryst. **17**, 1322 (1964).
- 15) P. Tollin : Acta Cryst. **21**, 613 (1966).
- 16) D. W. Young, P. Tollin and H. H. Sutherland : Acta Cryst. **B 24**, 161 (1968).
- 17) R. A. Crowther and D. M. Blow : Acta Cryst. **23**, 544 (1967).
- 18) P. Tollin : Acta Cryst. **A 25**, 376 (1969).
- 19) W. Eventoff, M. L. Hackert and M. G. Rossmann : J. Mol. Biol. **98**, 249 (1975).
- 20) D. Musick, A. Adams and M. G. Rossmann : J. Mol. Biol. **104**, 659 (1976).
- 21) R. Huber : Acta Cryst. **19**, 353 (1965).
- 22) J. Karle : Acta Cryst. **B 28**, 820 (1972).
- 23) P. E. Nixon and A. C. T. North : Acta Cryst. **A 32**, 320 (1976).
- 24) W. A. Hendrickson and K. B. Ward : Acta Cryst. **A 32**, 778 (1976).
- 25) Y. Harada : Thèse de Docteur de l'Université Paris VI (1979).
- 26) Y. Harada, A. Lifchitz, J. Berthou and P. Jollès : Acta Cryst. in press.
- 27) J. Berthou and P. Jollès : B. B. A. **336**, 222 (1974).

- 28) C. C. F. Blake, G. F. Mair, A. C. T. North, D. C. Phillips and R. Sarma : Proc. Roy. Soc. **B 167**, 365 (1967).
- 29) A. C. Bloomer, J. N. Champness, G. Briconge, R. Staden and A. Klug : Nature **276**, 362 (1978).