

# フラグメント分子軌道法の生物間相互作用解析 – ウイルスの受容体への結合特異性解析への応用 –

課題責任者

丸山 正 海洋研究開発機構 海洋生命理工学研究開発センター

著者

丸山 正<sup>\*1</sup>, 嶋根 康弘<sup>\*1</sup>, 岩沢美佐子<sup>\*2</sup>, 秦田 勇二<sup>\*1,10</sup>, 吉田 尊雄<sup>\*3</sup>,  
高木 善弘<sup>\*4</sup>, 大石 和恵<sup>\*5</sup>, 田中 成典<sup>\*6</sup>, 渡邊 博文<sup>\*6,11</sup>, 徐 逢祺<sup>\*6</sup>,  
望月 祐志<sup>\*7</sup>, 福澤 薫<sup>\*8</sup>, 古明地 勇人<sup>\*9</sup>

\*1 海洋研究開発機構 海洋生命理工学研究開発センター

\*2 海洋研究開発機構 地球情報基盤センター

\*3 海洋研究開発機構 海洋生物多様性研究分野

\*4 海洋研究開発機構 深海・地殻内生物圏研究分野

\*5 東京工芸大学 工学部

\*6 神戸大学 大学院システム情報学研究科

\*7 立教大学 理学部化学科

\*8 日本大学 松戸歯学部

\*9 産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門

\*10 埼玉工業大学

\*11 神戸大学 連携創造本部

本研究では、地球環境変化が海洋哺乳類のモービリウイルスによる感染症に与える影響を考える上で重要となるウイルスとその受容体の結合特異性を地球シミュレータで解析することを目的とした。この解析には受容体とそれに結合するウイルスタンパク質の正確な立体構造が必要であることから、その情報が既知である麻疹ウイルス（ヒトのモービリウイルス）のヘマグルチニン分子と、その受容体である SLAM および Nectin-4 との結合をフラグメント分子軌道（FMO）法により解析した。その結果、ヒト SLAM では LYS77、GLU123 は MVH との間で強い引力的相互作用を示しており、これらの残基は生物種間で保存されていることから生物種を超えて SLAM の機能およびモービリウイルスとの相互作用に重要と示唆された。また、MVH（A 鎖）と Nectin-4（B 鎖）間では強い引力的相互作用を示す残基ペア上位 20 組のうち、先行研究の構造解析実験において重要と示唆された 6 つの非荷電性アミノ酸残基のうち 3 つ（Leu464, Phe483, Tyr543）が含まれた。これらの結果より、FMO 法計算によるウイルス・宿主間相互作用解析の有用性が示された。

キーワード：モービリウイルス, 麻疹ウイルス, 受容体, SLAM, Nectin-4, フラグメント分子軌道法

## 1. はじめに

近年の地球環境の変化は、生物の移動や分布パターンに影響すると考えられ、それに伴って、その生物の感染症の分布も変化すると考えられる。海洋哺乳類である鯨類や鯨類でも、モービリウイルスによる感染症が大量死を起こす事が知られているが、地球環境の変化によりその分布が変化する可能性がある。これらの生物の種間での感染の予測には宿主と病原微生物の関係を決めている要因の解析が重要になる。本研究では、そのような重要な要因としてモービリウイルスとその受容体の結合を地球シミュレータで解析し、その特異性を推定することを目標としている。この解析には受容体とウイルスの正確な立体構造情報が必要である。しかし、海洋哺乳類のモービリウイルスではその両者の立体構造が明らかになっていない。そこで、両者の立体構造が明らかになっていて、宿主の受容体が同じ分子種に属すヒトのモービ

リウイルスである麻疹ウイルス（MV）とヒトの受容体の関係をフラグメント分子軌道（FMO）法により解析することを目的とした。

モービリウイルスという最も研究が進んでいる麻疹ウイルスでもその受容体との相互作用はコンピュータによる解析はされたことが無く、その相互作用をコンピュータ解析により明らかに出来ると、宿主特異性の高いモービリウイルスの宿主特異性がどのように決まり、また、どのような動物群にこのウイルスが感染できるのか推定できるようになるなど、重要な情報が得られると期待される。

## 2. 麻疹ウイルスとヒトの受容体および研究分担

MV の場合、宿主受容体と相互作用するのはヘマグルチニン（MVH）である。MVH が結合する宿主受容体には、① CD46（初めに見つかった受容体だが、後で弱毒

生ワクチン株だけが利用することが判明した)、② SLAM (多くの野生株ウイルスの感染時の受容体)、③ Nectin-4 (ウイルスが増殖後宿主から脱出する際に用いる受容体)、の3つが知られている。これらの3受容体はいずれも、MVH のほぼ同じ領域に結合することが結晶構造解析で明らかにされている [1]。ウイルスの宿主特異性に関わるのは SLAM 受容体である。研究体制としては、MVH と SLAM の相互作用については主に JAMSTEC が分担し、MVH と Nectin-4 相互作用については主に神戸大学で進めることにした。

### 3. ABINIT-MP の新 ES への移植

平成 27 年度には地球シミュレータの更新が行われたので、まず、FMO 法解析プログラム ABINIT-MP の新 ES への移植を行った。

比較的小さい系では ES2 と遜色無い性能が得られたが、MVH-SLAM と同程度の大きさの系でテスト計算を実施したところ、並列化効率がかなり悪化した結果となった。ES サポートに相談し、2015 年 12 月に問題箇所が解決した。即ち、フラグメントペア単位で通信を実施している部分について、計算ランク毎に一度配列に格納し、最後に allreduce するようにコードを変更した。これにより、64 ノード 256 コアで約 22,000 秒かかっていた計算が約 3,500 秒に減少した。新 ES では ES2 と比較して、ノード当たりの並列数が 1/2、ノード間転送性能が 1/8 となったため、今回のコード変更が必要になったと考えられる。

### 4. 計算方法

SLAM-MVH 複合体 (PDB: 3ALX)、Nectin-4-MVH 複合体 (PDB: 4GJT) の各結晶構造を用いて、結合界面で強い相互作用を示すアミノ酸残基を FMO 法で解析した [2]。計算は電子相関効果を考慮し、ファンデルワールス力を近似的に記述可能で疎水の相互作用を解析できる MP2/6-31G を用いて計算した。結晶構造はあらかじめ水素を付加して前処理を施した。

表 1 結合的・反発的相互作用の上位 10 位までのアミノ酸ペア  
相互作用強度上位のアミノ酸残基ペア。左、結合的；中央、反発的。右に示した生物種の SLAM のアミノ酸残基 (1 letter code) を結合的 (左) および反発的 (中央) のコラムに示した。

Position	MP2-IFIE kcal/mol	Amino acids variation on SLAMs	Position	MP2-IFIE kcal/mol	Amino acids variation on SLAMs	Species		
77	LYS	-197.22	-	124	LYS	37.23	E, K, Q	Buffalo, Cat, Chimpanzee,
123	GLU	-70.88	-	94	ASP	31.15	D, H, N	Cow, Dog, Elephant,
90	ARG	-59.52	D, H, P, R	34	LYS	19.02	E, K, M, T, V	Goat, Human,
71	GLU	-37.57	E, G, I, K, M, Q	61	HIS	16.75	H, R	Iriomote wildcat,
93	LYS	-35.96	E, G, K, N	109	GLU	16.69	E, G, K, Q	Killer whale, Lion,
75	GLU	-28.83	E, K, L, N	85	GLU	16.21	E, K	Manatee, Marmoset,
50	GLU	-26.66	E, D	114	ASP	15.63	D, N, S, T	Mouse, Norway rat,
127	SER	-25.72	-	136	LYS	14.59	K, R	Pacific white-sided dolphin,
95	ARG	-24.18	G, R	78	ILE	13.79	-	Rhesus monkey, Sheep,
131	PHE	-17.38	-	51	ARG	11.76	E, G, H, R	Spotted seal, Walrus,
								West indian manatee

### 5. MVH と SLAM 相互作用の解析

引力的・反発的相互作用共に上位はほぼ荷電アミノ酸によるものが占めており、表面電荷の分布が宿主選択性に関与するという予測を裏付ける結果が得られた (図 1、表 1)。ヒト SLAM では様々な生物種間で保存されている LYS77、GLU123 は MVH との間で強い引力的相互作用を示しており、生物種を超えて複合体形成を決定している可能性が示唆された (表 1)。

### 6. MVH と Nectin-4 の相互作用の解析

神戸大学では  $\pi$ -computer を利用して MVH と Nectin-4 受容体の相互作用解析を FMO 法により行った。MVH と Nectin-4 の複合体の結晶構造 (PDB: 4GJT) をダウンロードし、重原子位置は固定して、水素付加と位置の最適化を分子計算ソフトウェア MOE で行った構造に対して、FMO-HF (Hartree-Fock) /STO-3G 計算と FMO-MP2/6-31G 計算を ABINIT-MP により実行した。そして、計算結果から、タンパク質複合体に含まれるアミノ酸残基間の IFIE (Inter-Fragment Interaction Energy) 解析を行い、MVH (A 鎖) と

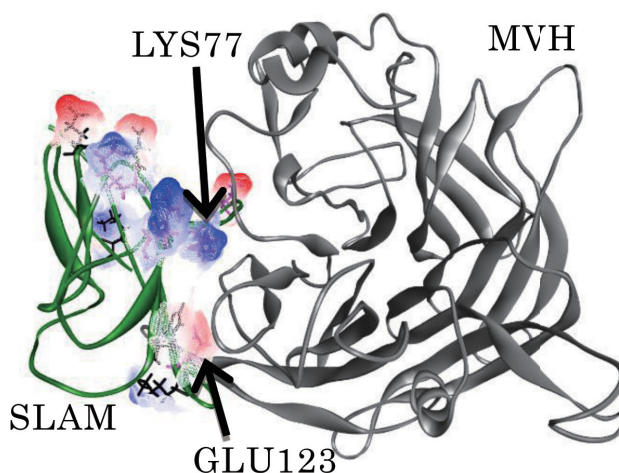


図 1 相互作用上位のアミノ酸と SLAM 表面電荷の分布  
Stick モデルは結合的 (ピンク)、反発的 (黒) の各トップ 5 を表示。メッシュは正電荷 (青)、負電荷 (赤) を表す。

Nectin-4 (B鎖、C鎖)の結合に重要な役割を果たしているアミノ酸(フラグメント)を相互作用レベルで定量的にピックアップした。

FMO-MP2計算によるIFIE解析の結果、MVH(A鎖)とNectin-4(B鎖)の間で強い引力的相互作用を示す残基ペア上位20組のうちに、先行研究の構造解析実験[1]において重要であると示唆された6つの非荷電性アミノ酸残基Leu464, Leu482, Phe483, Tyr524, Tyr541, Tyr543のうちの3つ(Leu464, Phe483, Tyr543)が含まれた(図2,表2)。また、Tyr541も21位のペアに含まれた。一方、FMO-HF計算では、これらの6つの非荷電性アミノ酸残基は上位20組のペアに1つも含まれなかった。一般に、アミノ

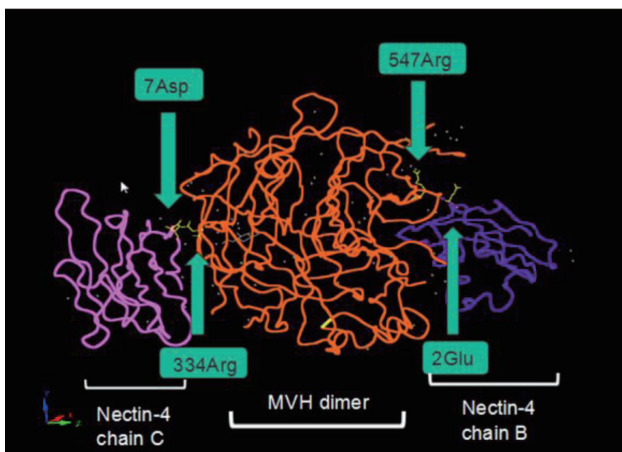


図2 計算結果の一例。Nectin-4のC鎖に対して一番強い相互作用を示したアミノ酸残基ペア。

Nectin-4のAsp7とMVHのArg334と、2番目に強いNectin-4のGlu2とArg547を矢印で示した。

酸ペアの相互作用が強くなるのは、どちらかが荷電性のアミノ酸である静電的な相互作用の場合が多く、今回のFMO-MP2計算ではArg547とGlu2のペア、FMO-HF計算ではLeu500とLys54のペアが最も強い引力的相互作用を示した。また、電子相関効果を適切に記述できないHF計算では、非荷電性アミノ酸間の分散力(ファンデルワールス力)的相互作用を記述できないことが知られており、これが今回のFMO-HF計算において、実験的に示唆された6つの非荷電性アミノ酸が関わる疎水的な相互作用を抽出できなかった原因であると考えられる。言いかえると、MVHとNectin-4間の分子間相互作用(分子認識)の正しい記述には、電子相関を取り入れたMP2レベルの計算が必要である。

## 7. まとめと今後の展望

以上のように、MVHと二つの受容体SLAMおよびNectin-4の間の相互作用解析をFMO-MP2計算に基づき適切に行うことができることがわかったので、今後は、実験データと対比させながら、アミノ酸残基間の相互作用のタイプをより詳しく分析し、特に、先行研究において重要だとされている疎水性ポケットの分子認識における役割について解明していきたいと考えている。また、地球シミュレータを用いて、MVHに対する他の受容体(CD46, SLAM)における分子認識機序との系統的対比計算も行い、ウイルスに対する阻害剤設計や医療応用につなげていきたいと考えている。

これらの研究により、海洋哺乳類におけるモービルウイルスの結合特異性と海洋におけるウイルス伝播への理解についても深まると考えられる。

表2 Nectin-4とMVH間での相互作用強度上位のアミノ酸残基ペア  
黄色は重要と実験で報告されている疎水性相互作用ペアを示す。

IJ		Distance	MP2-IFIE	IJ		Distance	MP2-IFIE				
chain B	chain A	Å	kcal/mol	chain C	chain A	Å	kcal/mol				
2	GLU	547	ARG	3.33902	-42.060	7	ASP	334	ARG	1.4468	-127.010
26	ASP	550	SER	1.80109	-26.100	4	GLU	302	ARG	2.73434	-82.477
54	LYS	392	ALA	3.25429	-19.595	2	GLU	302	ARG	2.44697	-54.297
33	GLN	389	LYS	4.47766	-14.977	111	ARG	332	ASP	4.98998	-26.200
103	ALA	465	GLY	1.96688	-12.124	24	ARG	317	VAL	1.85537	-13.954
2	GLU	548	SER	3.15353	-9.509	6	SER	336	TRP	2.12916	-13.357
52	HIS	389	LYS	2.05239	-8.990	111	ARG	331	THR	2.81938	12.187
30	GLN	506	GLY	2.25769	-8.685	8	VAL	335	SER	3.52653	-11.610
54	LYS	499	TYR	1.91785	-7.198	2	GLU	282	ASN	4.97807	-8.358
76	PRO	505	ASP	4.30220	-5.813	25	GLY	302	ARG	4.98643	-6.340
54	LYS	500	LEU	2.75333	-5.407	6	SER	334	ARG	4.79836	-5.816
100	THR	464	LEU	3.17785	-5.129	10	THR	422	GLU	4.94686	-4.961
103	ALA	543	TYR	2.23473	-5.090	10	THR	420	THR	2.61118	-4.733
105	SER	483	PHE	2.29355	-4.428	11	VAL	421	VAL	2.56961	-4.415
1	GLY	549	PHE	2.55267	-4.399	15	GLN	421	VAL	2.53251	-3.698
104	GLY	543	TYR	2.67688	-4.285	3	LEU	302	ARG	4.84089	-3.266
29	GLU	550	SER	4.49376	-4.090	4	GLU	318	SER	3.18061	-3.105
106	PHE	547	ARG	2.48912	-3.839	6	SER	335	SER	1.90559	-3.064
103	ALA	464	LEU	2.38729	-3.518	4	GLU	337	VAL	4.68368	-2.910
101	PHE	460	LYS	2.76674	-3.173	4	GLU	336	TRP	2.77864	-2.500
102	PRO	541	TYR	3.23272	-3.002	2	GLU	281	SER	2.62034	-2.129
104	GLY	524	TYR	2.78755	-2.948	5	THR	336	TRP	2.96858	-2.077
29	GLU	548	SER	3.90966	-2.884	24	ARG	318	SER	2.59284	-1.935

## 文献

- [1] X. Zhang et al., Nat. Struct. Mol. Biol. 20 (2013) 67-72.
- [2] S. Tanaka et al., Phys. Chem. Chem. Phys. 16 (2014) 10310-10344.



# Analysis of Biological Interaction by Fragment Molecular Orbital (FMO) Method

## – Analyses of the interactions between measles virus hemagglutinin and their receptors –

Project Representative

Tadashi Maruyama Center for Marine Biosciences, Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology

Authors

Tadashi Maruyama<sup>\*1</sup>, Yasuhiro Shimane<sup>\*1</sup>, Misako Iwasawa<sup>\*2</sup>, Yuji Hatada<sup>\*1, 10</sup>, Takao Yoshida<sup>\*3</sup>, Yoshihiro Takaki<sup>\*4</sup>, Kazue Ohishi<sup>\*5</sup>, Shigenori Tanaka<sup>\*6</sup>, Hirofumi Watanabe<sup>\*6, 11</sup>, Fengqi Xu<sup>\*6</sup>, Yuji Mochizuki<sup>\*7</sup>, Kaori Fukuzawa<sup>\*8</sup> and Yuto Komeiji<sup>\*9</sup>

\*1 Center for Marine Biosciences, Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology

\*2 Center for Earth Information Science and Technology, Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology

\*3 Department of Marine Biodiversity Research, Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology

\*4 Department of Subsurface Geobiological Analysis and Research, Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology

\*5 Faculty of Engineering, Tokyo Polytechnic University

\*6 Department of Computational Science, Kobe University

\*7 Department of Chemistry, Rikkyo University

\*8 School of Dentistry at Matsudo, Nihon University

\*9 Biomedical Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

\*10 Saitama Institute of Technology

\*11 Center for Collaborative Research and Technology Development, Kobe University

To understand the effect of recent global climate change on the spreading of diseases among marine mammals, we focused our attention on the supercomputer assisted estimation of the interaction between the morbilliviruses and the receptors of marine mammals. However, to do such estimations, precise three dimensional structure of the receptor-virus coat protein complex is necessary. Because this type of information was available only for the human measles-virus MV and its receptors, we analyzed hemagglutinin of MV and its receptors, SLAM and Nectin-4, by fragment molecular orbital (FMO) method. The results showed that the most and second strongly interacting amino acid residues of human SLAM were calculated to be Lys77 and Glu123, which are well conserved among various mammalian SLAMs. For the interaction between the Nectin-4 and MV-H, the strongest interaction was calculated to be that between Asp7 of Nectin-4 and Arg334 of MVH. Three non-charged residues, Leu464, Phe483 and Tyr543 of MV-H, which have been reported to be important in the molecular recognition, were found to be in the top 20 strongly interacting amino acid residues. These results indicate that the FMO method is useful for estimating the interaction between the virus and the receptors.

**Keywords:** morbilli virus, measles virus, SLAM, Nectin-4, fragment molecular orbital method

### 1. Introduction

Recent climate changes are thought to affect distribution of organisms on the earth and hence their diseases. In marine mammals, like cetaceans and pinnipeds, mass die offs, which have often been reported in the Atlantic Ocean, are caused by various pathogenic diseases. The major pathogens were found to be morbilliviruses belonging to Paramyxoviridae. The distribution of the diseases is expected to be changed by the climate change. To predict such changes, we have to understand the factors affecting the interaction between the virus and the host animal. One of the important factors restricting the

interaction and determining the specificity of the host-virus interaction is the binding affinity between the viral envelop and its receptor on the host cell. Although the virus-host specificity is believed to be high in morbilliviruses, expansion of host range from dogs to pinnipeds and cats has been reported in canine distemper virus. This also indicates the importance of studying host range specificity of morbillivirus that may influence the expansion of the disease together with the change of the host animal distribution. For the analysis, the accurate three dimensional structures of the virus hemagglutinin and of the receptor, signaling lymphocyte activation molecule (SLAM)

are necessary. In morbilliviruses other than the measles virus, no information is available for both hemagglutinin or for the SLAM. So that in this study, we chose the measles virus for the analysis. In this virus, the situation is a little complicated. Three receptors, CD46, SLAM and Nectin-4, have been reported. Although CD46, was reported for the first, it was later shown to be a receptor only for a vaccine strain of the measles virus. SLAM is the receptor for the wild type virus when the virus infects the host human being, and the Nectin-4 is the receptor when the virus escapes from the host. These three receptors are known to bind to almost the same region of the measles virus hemagglutinin (MVH). Their three dimensional structures have been reported in the binding forms with the MVH[1]. In the present study, binding affinities of the MV-H to human SLAM and Nectin-4 were analyzed by using FMO method.

## 2. Method

Two interactions between MVH and one of three human receptors, SLAM or Nectin-4, in their respective bound complexes, of which structures were retrieved from the protein structure database (PDB: 3ALX and 4GJT) were calculated by the FMO method with MP2/6-31G scheme using software ABINIT-MP[2]. Preparations of the complex structures employed for the FMO calculations were carried out through molecular modeling by Molecular Operating Environment (MOE, CCG Inc.) or Discovery Studio (BIOVIA).

## 3. Results

**Interaction between MVH and SLAM.** Among the binding interactions, electrostatic forces for repulsive and attractive interactions were shown to be stronger than others as predicted previously (Fig. 1 and Table 1). Top two amino acid residues of the human SLAM in the strength of the interaction, Lys77 and Glu123, were shown to be well conserved among the reported mammalian SLAMs, suggesting that they may be important in the interaction of SLAM with the MV-H (Table 1).

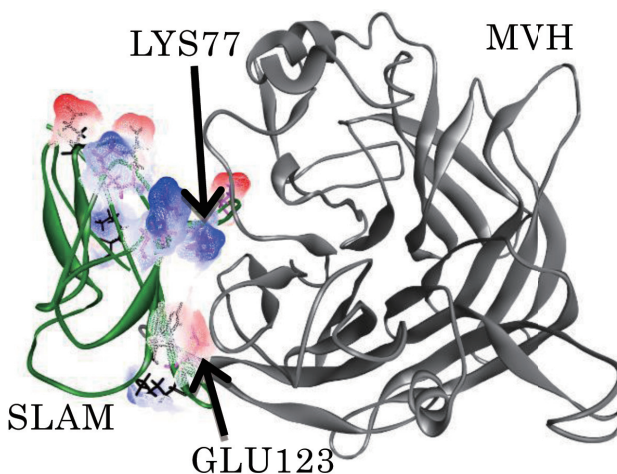


Fig. 1 Top 5 strongly interacting amino acid residues of SLAM in the SLAM-MVH complex. Red mesh, positive charge; Blue mesh, negative charge. Pink stick, attractive interaction.

Table 1 Top ten strongly interacting attractive and repulsive amino acid pairs. Left, attractively interacting pairs. Middle, repulsively interacting pairs. Right, list of animals of which amino acid variations are shown in the left and middle tables.

Position	MP2-IFIE kcal/mol	Amino acids variation on SLAMs	Position	MP2-IFIE kcal/mol	Amino acids variation on SLAMs	Species		
77	LYS	-197.22	-	124	LYS	37.23	E, K, Q	Buffalo, Cat, Chimpanzee, Cow, Dog, Elephant, Goat, Human, Iriomote wildcat, Killer whale, Lion, Manatee, Marmoset, Mouse, Norway rat, Pacific white-sided dolphin, Rhesus monkey, Sheep, Spotted seal, Walrus, West indian manatee
123	GLU	-70.88	-	94	ASP	31.15	D, H, N	
90	ARG	-59.52	D, H, P, R	34	LYS	19.02	E, K, M, T, V	
71	GLU	-37.57	E, G, I, K, M, Q	61	HIS	16.75	H, R	
93	LYS	-35.96	E, G, K, N	109	GLU	16.69	E, G, K, Q	
75	GLU	-28.83	E, K, L, N	85	GLU	16.21	E, K	
50	GLU	-26.66	E, D	114	ASP	15.63	D, N, S, T	
127	SER	-25.72	-	136	LYS	14.59	K, R	
95	ARG	-24.18	G, R	78	ILE	13.79	-	
131	PHE	-17.38	-	51	ARG	11.76	E, G, H, R	

**Interaction between MVH and Nectin-4.** The stronger interactions in the MVH-Nectin-4 complex were calculated by FMO-MP2. The strongest interaction among the calculated pairs was found between Asp7 of Nectin-4 and Arg334 of MVH (Fig. 2). Three non-charged residues, Leu464, Phe483 and Tyr543, which have been reported to be important in the molecular recognition[1], were among the top 20 strongly interacting amino acid residues (Table 2).

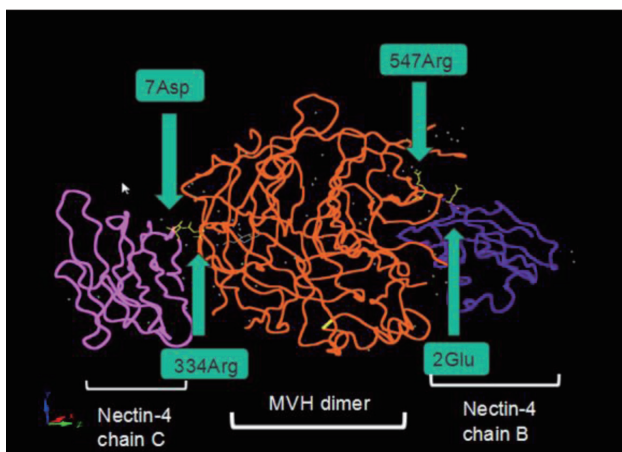


Fig. 2 Three dimensional structure of the complex of MVH dimer and 2Nectin-4 showing the strongest interacting amino acid pair, Asp7 (Nectin-4) and Arg334 (MVH), and the second one Glu2 (Nectin-4) and Arg547 (MVH).

#### 4. Conclusion and future perspective.

The present study showed that the interactions between the MVH and the receptors calculated by FMO-MP2 well agreed with the experimental data reported previously.

In future studies, we will extend this approach 1) to more detailed interactions, including van der Waals interactions, 2) to MVH-CD46, which we did not analyze in the present work, and 3) to those various amino acid substituted receptors. The third one is important to get some insight into understanding morbillivirus infections in marine mammals.

#### Reference

- [1] X. Zhang et al., Nat. Struct. Mol. Biol. 20 (2013) 67-72.
- [2] S. Tanaka et al., Phys. Chem. Chem. Phys. 16 (2014) 10310-10344.

Table 2 Strongly interacting amino acid pairs between MVH and Nectin-4.

Chain A indicates MVH. Chains B and C indicate 2 Nectin-4s. Yellow indicates the hydrophobic interactions, which have been shown to be experimentally important.

IJ		Distance	MP2-IFIE	IJ		Distance	MP2-IFIE				
chain B	chain A	Å	kcal/mol	chain C	chain A	Å	kcal/mol				
2	GLU	547	ARG	3.33902	-42.060	7	ASP	334	ARG	1.4468	-127.010
26	ASP	550	SER	1.80109	-26.100	4	GLU	302	ARG	2.73434	-82.477
54	LYS	392	ALA	3.25429	-19.595	2	GLU	302	ARG	2.44697	-54.297
33	GLN	389	LYS	4.47766	-14.977	111	ARG	332	ASP	4.98998	-26.200
103	ALA	465	GLY	1.96688	-12.124	24	ARG	317	VAL	1.85537	-13.954
2	GLU	548	SER	3.15353	-9.509	6	SER	336	TRP	2.12916	-13.357
52	HIS	389	LYS	2.05239	-8.990	111	ARG	331	THR	2.81938	12.187
30	GLN	506	GLY	2.25769	-8.685	8	VAL	335	SER	3.52653	-11.610
54	LYS	499	TYR	1.91785	-7.198	2	GLU	282	ASN	4.97807	-8.358
76	PRO	505	ASP	4.30220	-5.813	25	GLY	302	ARG	4.98643	-6.340
54	LYS	500	LEU	2.75333	-5.407	6	SER	334	ARG	4.79836	-5.816
100	THR	464	LEU	3.17785	-5.129	10	THR	422	GLU	4.94686	-4.961
103	ALA	543	TYR	2.23473	-5.090	10	THR	420	THR	2.61118	-4.733
105	SER	483	PHE	2.29355	-4.428	11	VAL	421	VAL	2.56961	-4.415
1	GLY	549	PHE	2.55267	-4.399	15	GLN	421	VAL	2.53251	-3.698
104	GLY	543	TYR	2.67688	-4.285	3	LEU	302	ARG	4.84089	-3.266
29	GLU	550	SER	4.49376	-4.090	4	GLU	318	SER	3.18061	-3.105
106	PHE	547	ARG	2.48912	-3.839	6	SER	335	SER	1.90559	-3.064
103	ALA	464	LEU	2.38729	-3.518	4	GLU	337	VAL	4.68368	-2.910
101	PHE	460	LYS	2.76674	-3.173	4	GLU	336	TRP	2.77864	-2.500
102	PRO	541	TYR	3.23272	-3.002	2	GLU	281	SER	2.62034	-2.129
104	GLY	524	TYR	2.78755	-2.948	5	THR	336	TRP	2.96858	-2.077
29	GLU	548	SER	3.90966	-2.884	24	ARG	318	SER	2.59284	-1.935

