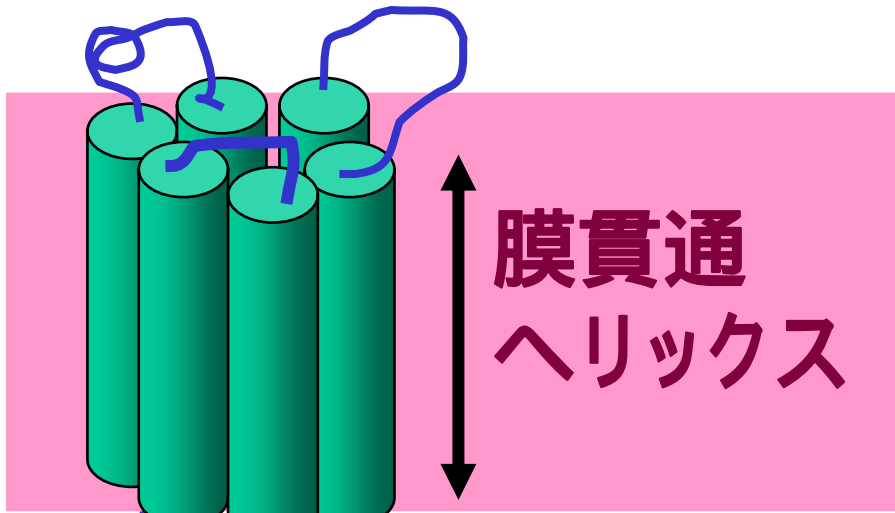


膜タンパク質の 立体構造予測

立体構造予測

- 1) 比較モデリング法
- 2) フォールド認識法
- 3) 階層的予測法
- 4) ab-initio 予測法

膜タンパク質立体構造予測の手順



- ◆ 膜に垂直なヘリックス
- ◆ 管状構造

ヘリックス間相互作用として何を考慮するかが重要

アミノ酸配列

膜タンパク質判別

ヘリックス領域予測

ヘリックス配置予測

構造精密化

膜タンパク質立体構造予測に必要な 知見集

References

Torres, J. Biophysical Journal. (2000) vol 79

膜貫通ヘリックス間の単独 Glyが、ヘリックス間のTiltを決めている例を提示。

Arkin. T Protein Science (2001) vol 10.

脂質やサブユニット間残基より膜タンパク質内部の残基の方が進化的に保存しやすい。

Adamian. L PROTEINS (2002) 47. 膜貫通ヘリックス間の水素結合が重要

Torres, J. Biophysical Journal. (2000) vol 79

膜貫通ヘリックス間の単独 Glyが、ヘリックス間のTiltを決めている例を提示。

Eilers, M Biophysical Journal. (2002) Vol 82

膜タンパク質および水溶性タンパク質のヘリックス間パッキングに関わる残基を比較

膜貫通ヘリックスパッキングには、小さな残基が使われている。

LxxLxxLxx, GxxG が多く見られる。

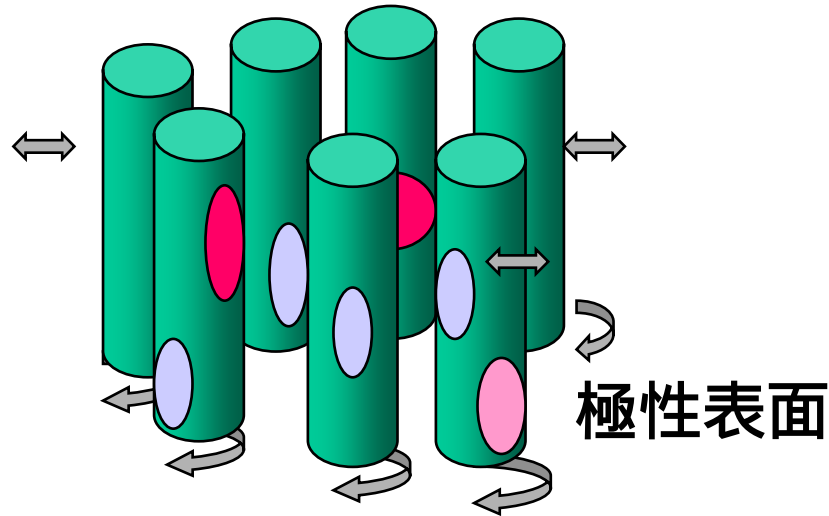
Engelman, D, M Current Opinion in Structural Biology (2003), vol 13: 412-417.

膜貫通ヘリックスパッキングはGxxGモチーフや、極性残基が関与。特に小さな残基が構造安定化と構造変化に重要。

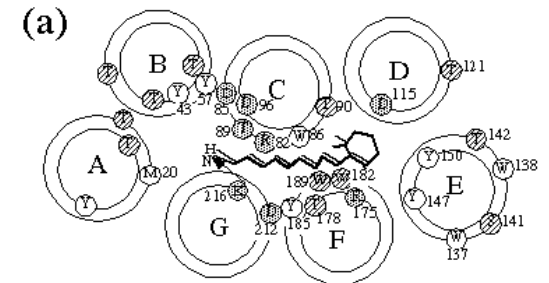
ラフな構造テンプレートがある場合(1)

エネルギー極小化

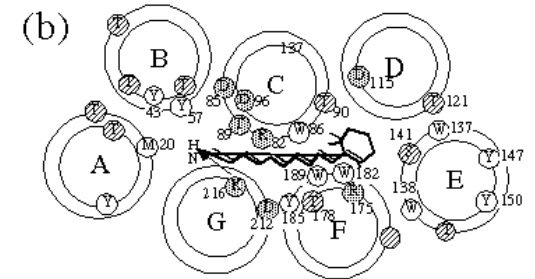
回転、並進、傾き



天然構造(正解)



バクテリオロドプシン



予測構造

バクテリオロドプシン、ロドプシンの構造を再現できた。

発表論文: Suwa, M. PROTEINS (1995)

ラフな構造テンプレートがある場合(2)

Pilpel, Y. J.M.B (1999) vol294.

$$kPROT_i = \ln[f_s^i / f_m^i]$$

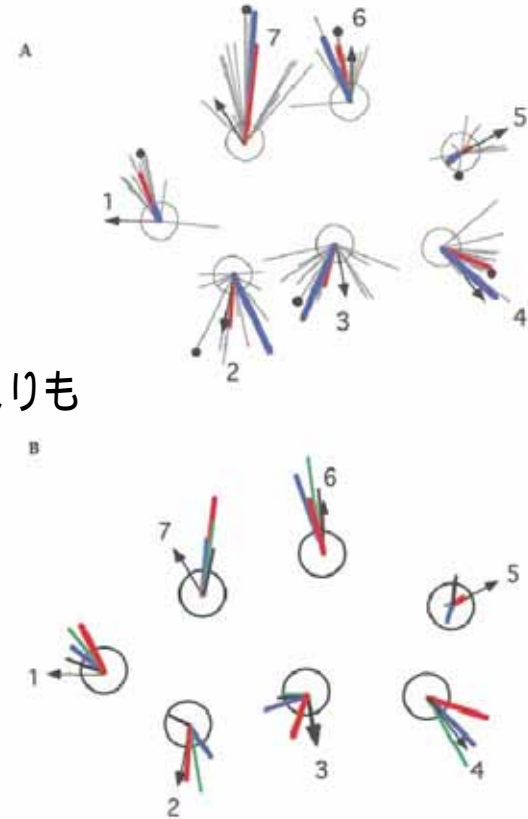
f_s^i : 1本貫通TM上のアミノ酸残基出現頻度

f_m^i : 多重膜貫通型TM上のアミノ酸出現頻度

脂質に露出する残基は、多重膜貫通ヘリックス型よりも1本膜貫通ヘリックス型に多く存在。

膜タンパク質コア部分に向く残基は、多重膜貫通ヘリックス型に多く存在。

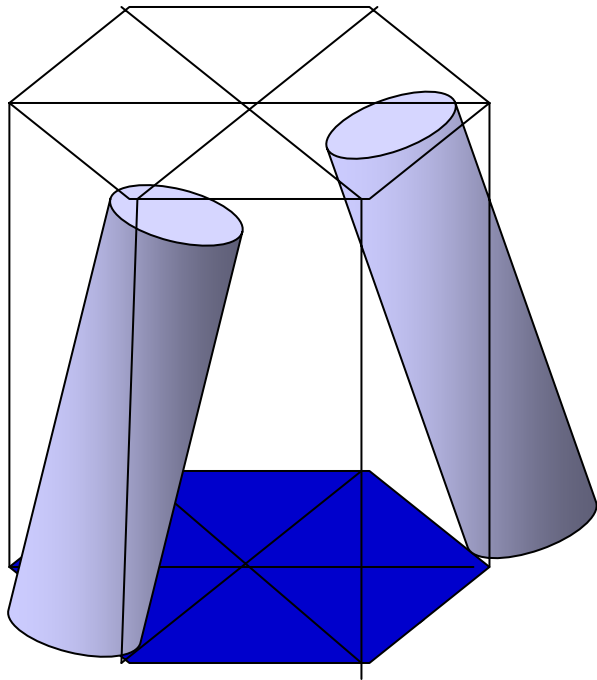
kPROTを基にして、モーメント計算をすると、実際の脂質露出表面方向と比較良く一致している。



バクテリオロドプシン

六角格子を使ったヘリックス配置予測 六方格子内での立体構造予測

ヘリックスの位置、傾き、回転の自由度を変化させながら最適構造を求める。



Taylor, WR., Jones and Greem, N. M.
1994 Proteins 281-294

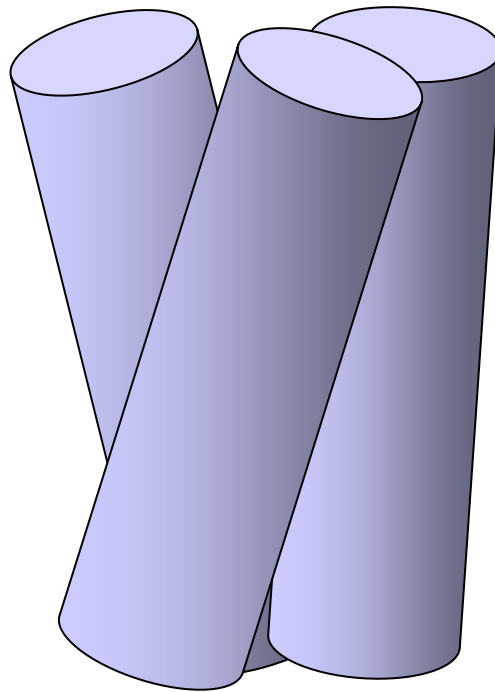
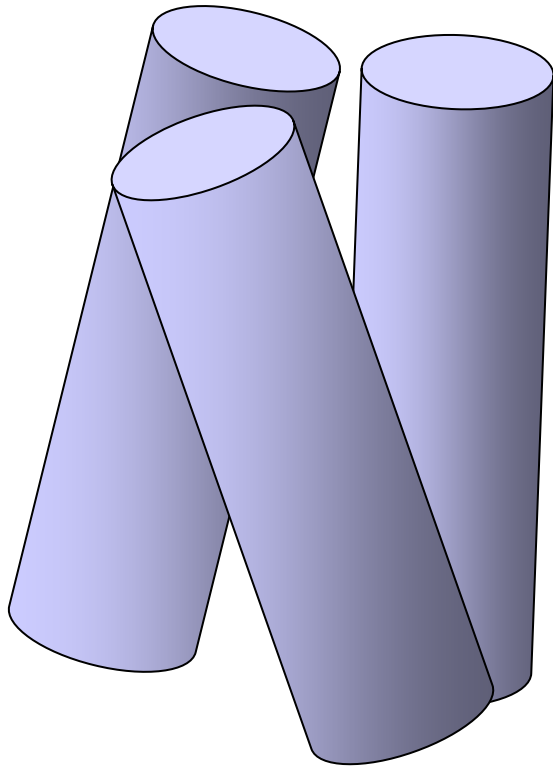
疎水性表面が脂質側に向く作用を考慮

Hirokawa, Y., Uechi. J., Sasamoto H.,
Suwa M. and Mitaku. S
2000, Protein Emg. 771-78

ヘリックス間の極性相互作用を考慮

Helix-Bundle membrane protein fold template

Bowie, J. U. 1999. Protein Science 2711-2719



3 ~ 7本
ヘリックスタイプ

様々な自由度を15度
刻みで考慮

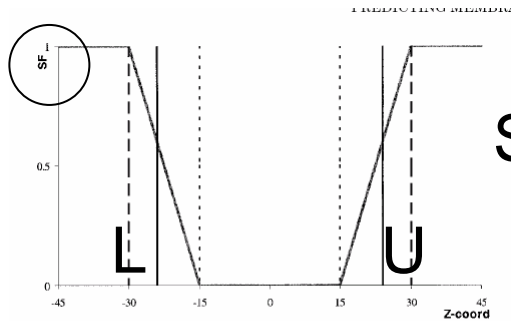
3本 30 fold

7本 1,500,000 fold

フォールディングシミュレーションによる構造予測

Pellegrini - Calace, M 2003. PROTEINS, vol 50

FILM Model



$$SF = (|z| - L) / (U - L)$$

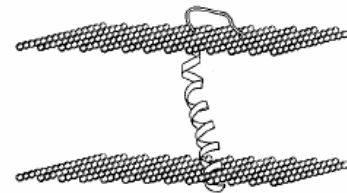
Fig. 1. Scheme of the membrane model: Z-coord indicates coordinates (Å) along the z-axis and SF is the smoothing factor of the solvation energy (see Materials and Methods section). Solid lines indicate the total thickness of the physical bilayer (from -24 Å to 24 Å); dotted lines bound the core (from -15 Å to 15 Å); the effect of phospholipid head-polar groups is extended to areas bounded by broken and solid lines (from -30 Å to -24 Å and from 24 Å to 30 Å, respectively); the grey line describes the water effect within the membrane.

$$E_{tot} = aE_{short-range} + bE_{long-range} + cE_{solv} + dE_{mem} + eE_{steric} + fE_{hbond}$$

小さな膜タンパク質予測には有効

予測構造

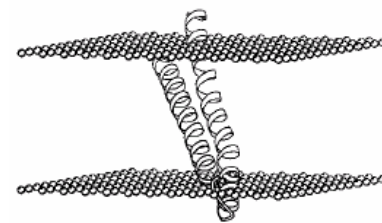
NMR構造



(a)



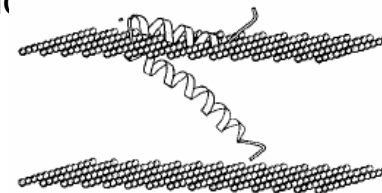
(b)



(c)



(d)



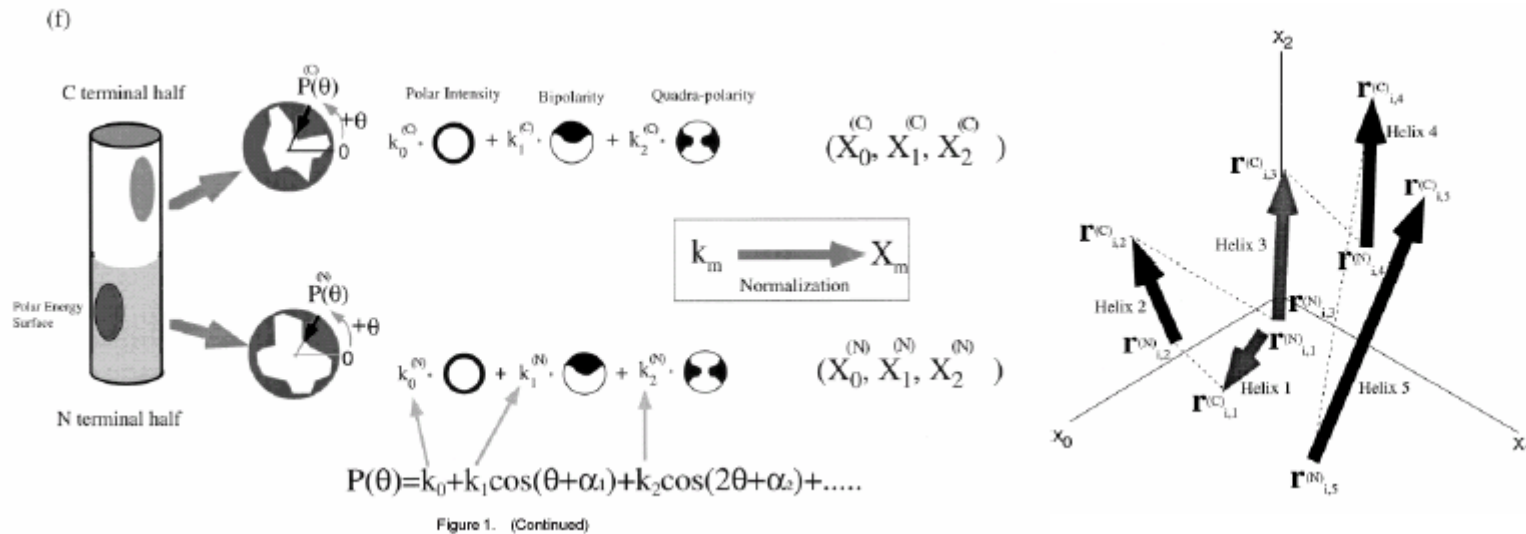
(e)



(f)

配列からの立体構造認識

Suwa, M. et al PROTEINS (2000)



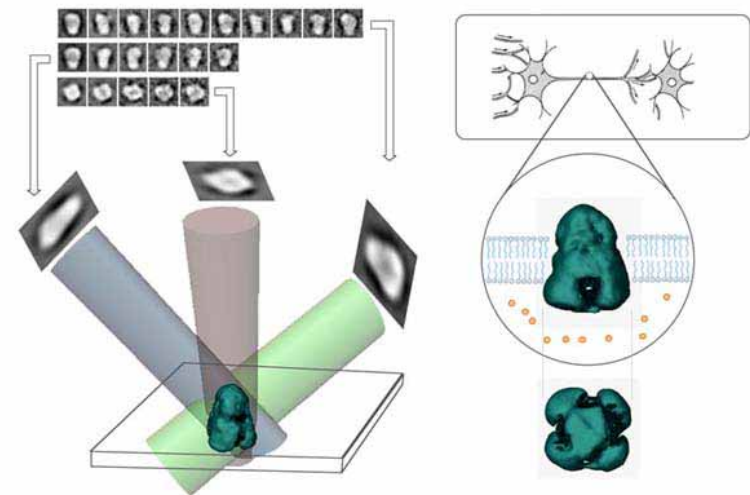
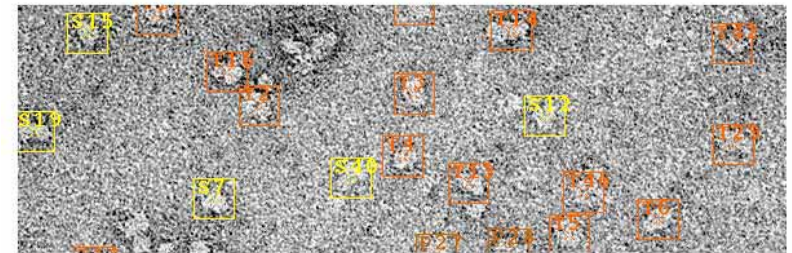
膜貫通ヘリックス周囲の極性相互作用領域を関数フィッティングにより、空間ベクトルに変換。
(1個の膜タンパク質の内部の相互作用領域は、ベクトル群で表現)

ベクトル群の類似性で立体構造の類似性を判断。

二次元画像からの膜タンパク質立体構造再現 電子顕微鏡単粒子解析

Satoh.T, Ueno, Y et al., Nature (2001)

- 膜タンパク質などの結晶解析の難しい試料の構造解析や構造変化を直接捉えるため、タンパク質の単粒子画像を用いて画像処理を駆使した構造解析を行う。
- PCクラスタを活用した解析の高速化



Single Particle Analysis with Angular Reconstitution

The Boltage Sensitive Sodium channel a membrane proteins on a neuron