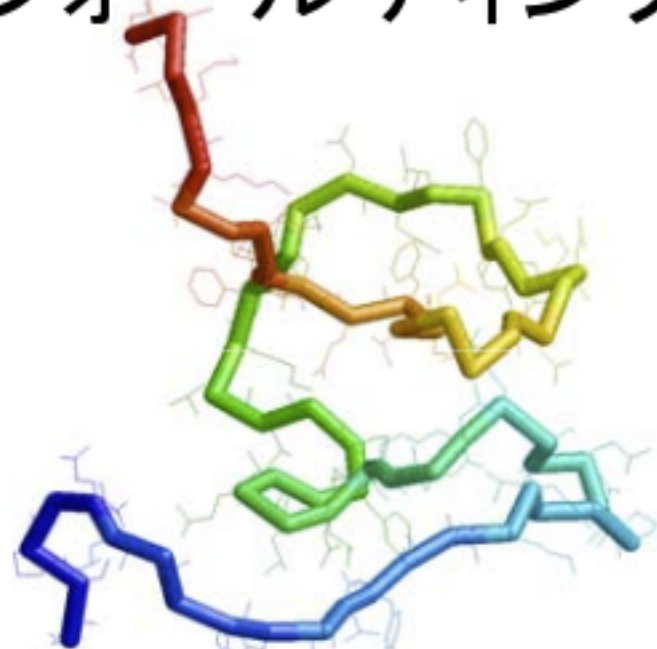


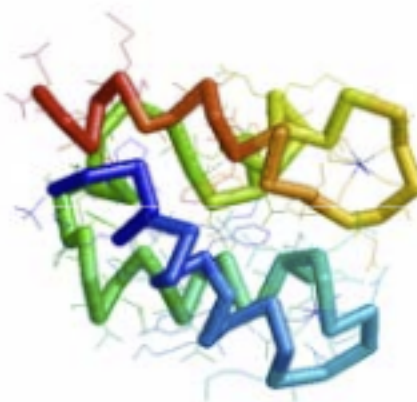
# フォールディング (折り畳み) という現象



変性状態 (D)

非常に多種の構造の集合  
大きく広がっている

温度や変性剤濃度  
によって可逆に変化



天然状態 (N)

ほとんど唯一の構造  
小さくコンパクトに折りたたまっている

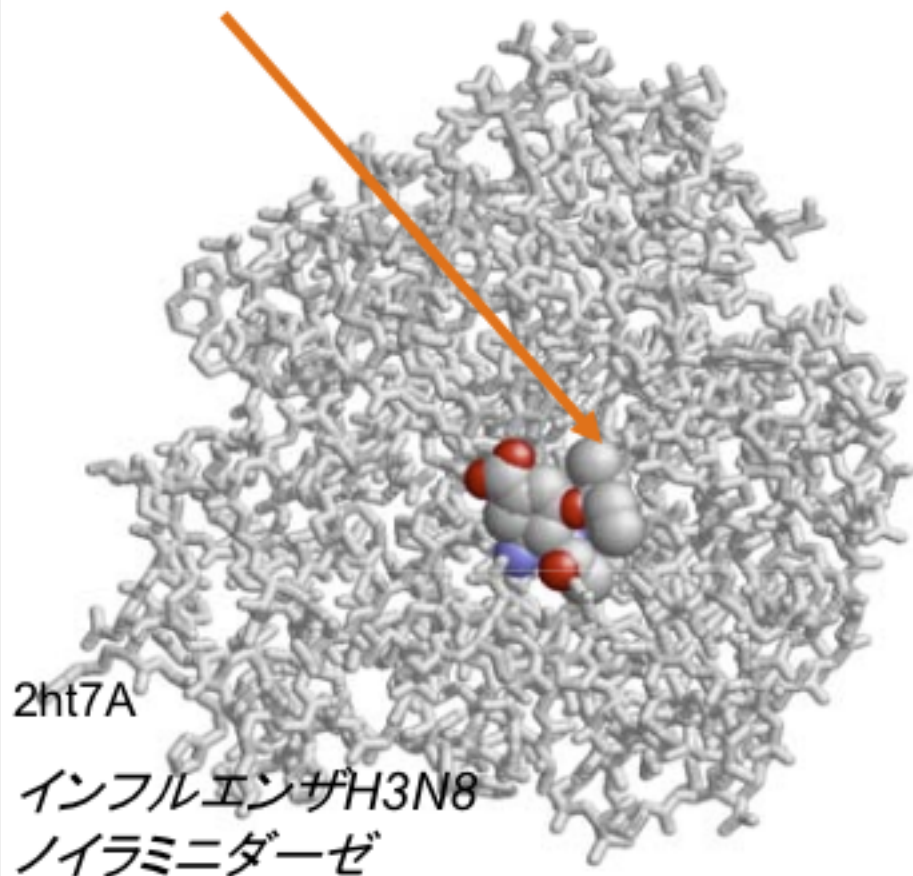
・折り畳みは、原則としてその蛋白質以外の分子の介助を必要としない

## アミノ酸配列の情報だけで、天然状態の立体構造が決定される

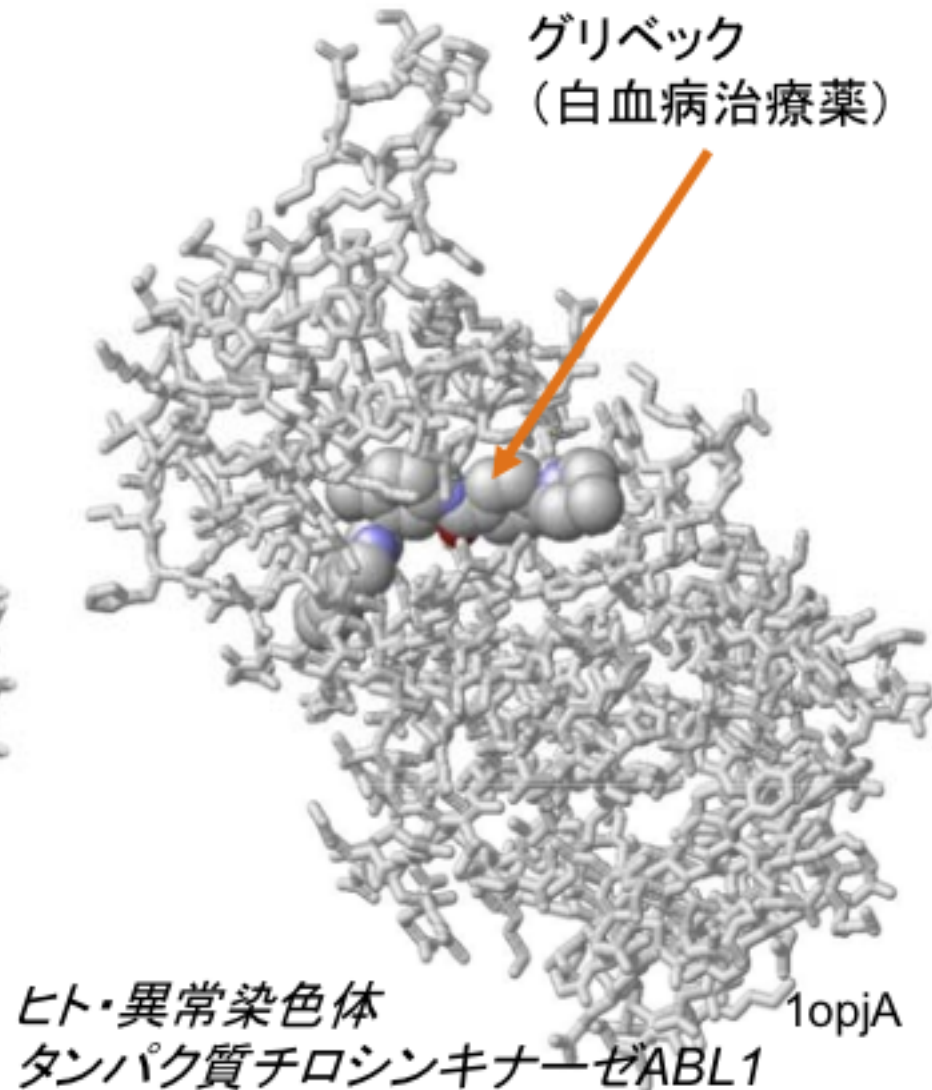
- ・どうやってコンパクトになるか? → (1) 主鎖の水素結合 (2) 側鎖間の疎水性相互作用
- ・あるアミノ酸配列がどうやって一つの構造を決めるのか???

# タンパク質に選択的に結合し機能を阻害する分子

タミフル  
(インフルエンザ治療薬)



グリベック  
(白血病治療薬)

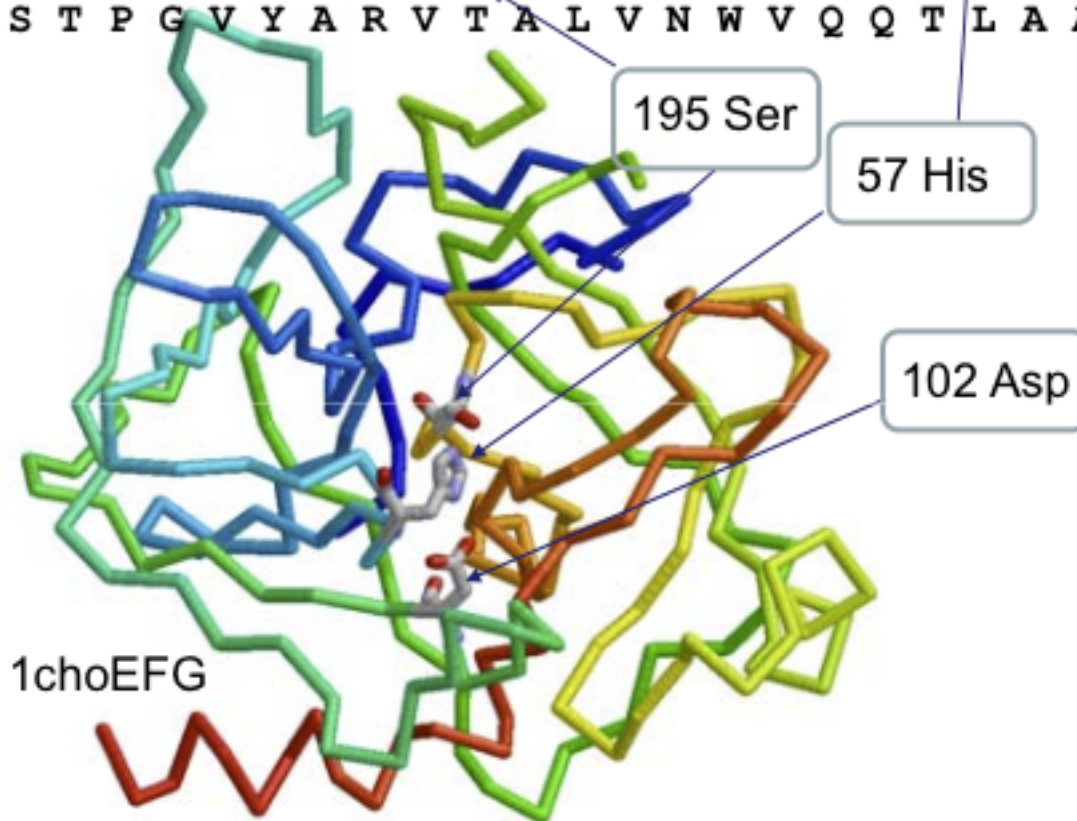


標的タンパク質の結合部位の立体構造をもとに、そこに選択的に結合する分子を設計(ドラッグデザイン)

# キモトリプシンの活性部位

>CTRA\_BOVIN "Chymotrypsinogen A (EC 3.4.21.1)

```
C G V P A I Q P V L S G L S R I V N G E E A V P G S W P W Q V S L Q D K T
G F H F C G G S L I N E N W V V T A A (H) C G V T T S D V V V A G E F D Q G
S S S E K I Q K L K I A K V F K N S K Y N S L T I N N (D) I T L L K L S T A
A S F S Q T V S A V C L P S A S D D F A A G T T C V T T G W G L T R Y T N
A N T P D R L Q Q A S L P L L S N T N C K K Y W G T K I K D A M I C A G A
S G V S S C M G D (S) G G P L V C K K N G A W T L V G I V S W G S S T C S T
S T P G V Y A R V T A L V N W V Q Q T L A A N
```



キモトリプシン(Chymotrypsin) :  
他のタンパク質を加水分解する  
酵素

三つのアミノ酸  
(57His, 102Asp, 195Ser)が  
反応に必須である(catalytic triad)。

それらは、配列上では散在している  
が、立体構造上は近接しており、大き  
なくぼみの奥に位置する。

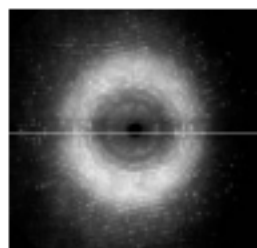
# 立体構造の決定法

## X線結晶解析

大量発現  
精製  
結晶化

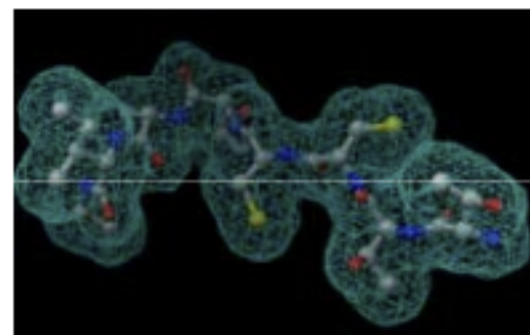


X線回折強度の測定



3次元  
電子密度マップ

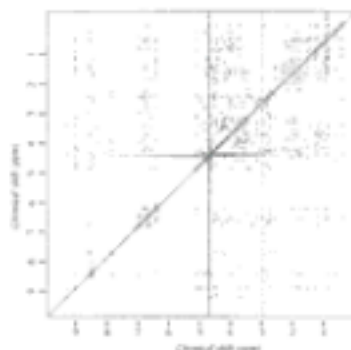
原子モデルの構築  
原子モデルの精密化



## NMR(核磁気共鳴法)

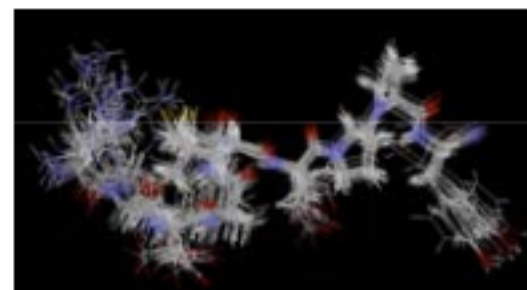
大量発現  
精製

核磁気共鳴解析  
(NOE解析, 帰属と距離拘束の抽出)



原子間  
距離拘束

原子モデルの構築  
原子モデルの精密化



- (1)多数分子の平均構造の観察(精製が重要。大きな分子、複合体はより難しくなる)
- (2)発現・精製・結晶化のステップで、各タンパク質によって実験条件の調整が必須
- (3)実験データの収集・原子モデル構築の段階で計算機の支援が不可欠

# PDBフォーマット

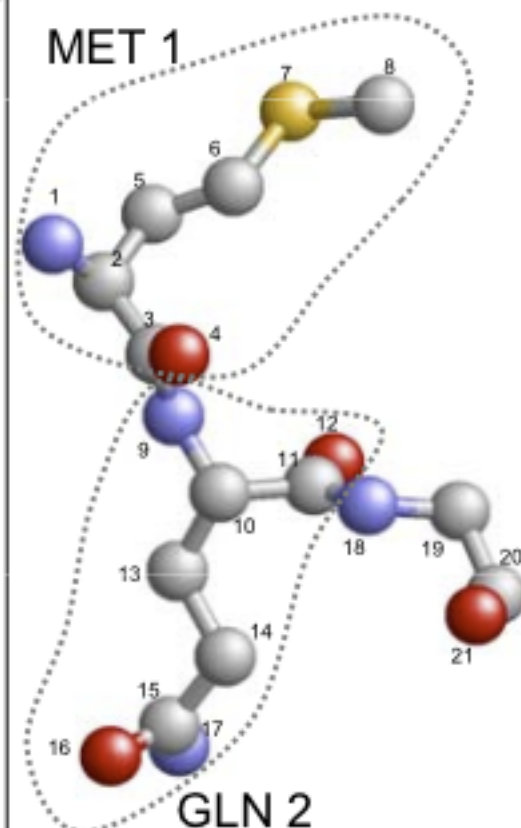
RCSB PDB <http://www.rcsb.org/pdb/>

MSD EBI <http://www.ebi.ac.uk/msd>

PDBj <http://www.pdbj.org>

wwPDB(World Wide Protein Data Bank) : 立体構造データの収集するデータベース

HEADER	UBIQUITIN				17-APR-92	1AAR	
COMPND	DI-UBIQUITIN						
SOURCE	BOVINE (BOS TAURUS) ERYTHROCYTES						
AUTHOR	W. J. COOK, L. C. JEFFREY, M. CARSON, Z. CHEN, C. M. PICKART						
	原子番号	残基名	鎖識別子			PDB ID	
	原子名	残基番号	X座標	Y座標	Z座標	占有率	温度因子
ATOM	1 N MET A 1	15.493	30.088	14.694	1.00	8.36	
ATOM	2 CA MET A 1	14.600	29.031	15.110	1.00	8.15	
ATOM	3 C MET A 1	15.476	27.793	15.419	1.00	9.30	
ATOM	4 O MET A 1	16.571	27.561	14.871	1.00	8.96	
ATOM	5 CB MET A 1	13.500	28.837	14.105	1.00	9.89	
ATOM	6 CG MET A 1	13.823	27.997	12.931	1.00	10.21	
ATOM	7 SD MET A 1	12.312	27.711	11.891	1.00	10.33	
ATOM	8 CE MET A 1	13.174	26.595	10.726	1.00	7.30	
ATOM	9 N GLN A 2	14.968	27.014	16.326	1.00	9.75	
ATOM	10 CA GLN A 2	15.552	25.806	16.852	1.00	11.92	
ATOM	11 C GLN A 2	15.000	24.553	16.168	1.00	11.71	
ATOM	12 O GLN A 2	13.787	24.387	16.086	1.00	10.00	
ATOM	13 CB GLN A 2	15.368	25.715	18.386	1.00	12.39	
ATOM	14 CG GLN A 2	15.858	24.413	19.051	1.00	14.00	
ATOM	15 CD GLN A 2	15.676	24.587	20.561	1.00	15.59	
ATOM	16 OE1 GLN A 2	16.525	25.209	21.205	1.00	18.67	
ATOM	17 NE2 GLN A 2	14.564	24.203	21.152	1.00	15.39	
ATOM	18 N ILE A 3	15.960	23.745	15.687	1.00	11.79	
ATOM	19 CA ILE A 3	15.593	22.437	15.130	1.00	12.14	
ATOM	20 C ILE A 3	16.491	21.342	15.720	1.00	11.99	
ATOM	21 O ILE A 3	17.701	21.540	15.767	1.00	12.91	

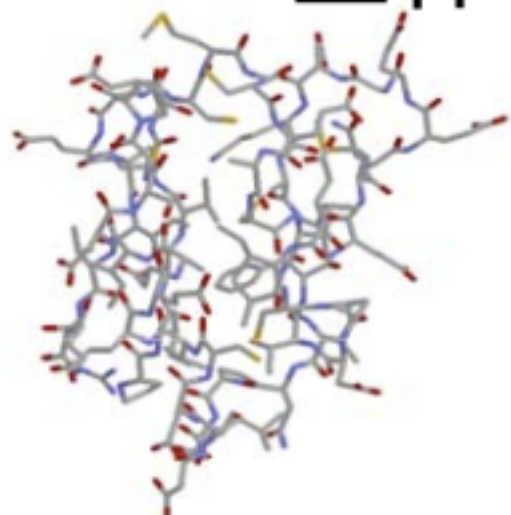


PDBは1971年に設立

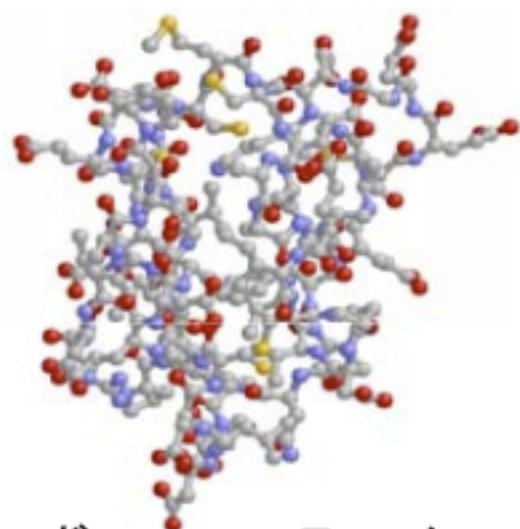
## 立体構造描画のフリーウェア・シェアウェア

ソフト名	WebSite	対応機種	特徴
<b>RasMol</b>	<a href="http://www.openrasmol.org">www.openrasmol.org</a>	Win Mac Linux (ソース公開)	独自の高速描画アルゴリズムを用い、非力なハードでも同様に高速描画が可能。コマンド言語は強力が多機能。基本的な描画法をカバーするが、分子表面の描画はできない。描画の質はやや低い。
<b>Chime</b>	<a href="http://www.mdlchime.com">www.mdlchime.com</a>	Win Mac (ソース非公開)	RasMolをベースにしたWEBブラウザ内で動作するプラグイン。分子表面表示など描画機能はRasMolより拡張されている。WEBページに分子描画機能を加えることが可能。
<b>Jmol</b>	<a href="http://jmol.sourceforge.net">jmol.sourceforge.net</a>	Win Mac Linux (ソース公開)	Java Applet によりWEBブラウザ内で動作。Chimeと同様に、WEBページに分子描画機能を加えることが可能。Javaを実行できる環境(JRE)があれば、特別なソフトウェアのインストールを必要としない。
<b>PyMOL</b>	<a href="http://pymol.sourceforge.net">pymol.sourceforge.net</a>	Win Mac Linux (ソース公開)	OpenGLを用いた質の高い描画。Python言語で開発されており、ソースも公開。Python言語を用いた機能拡張も可能。
<b>CHIMERA</b>	<a href="http://www.cgl.ucsf.edu/chimera/">www.cgl.ucsf.edu/chimera/</a>	Win Mac Linux (ソース非公開)	OpenGLを用いた質の高い描画。電顕画像などの多様なデータの取り込み、ドッキング、静電計算などのインタフェース有り。Python言語を用いた機能拡張。
<b>VMD</b>	<a href="http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/">www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/</a>	Win Mac Linux (ソース非公開)	OpenGLを用いた質の高い描画。Tcl言語を用いた機能拡張が可能。分子動力学の可視化を主要目的として幅広い機能。
<b>Swiss PDB Viewer</b>	<a href="http://au.expasy.org/spdbv">au.expasy.org/spdbv</a>	Win Mac Linux (ソース非公開)	OpenGLを用いた質の高い描画。幅広い機能をサポートしているが、現在あまり活発にアップデートが進んでいない。

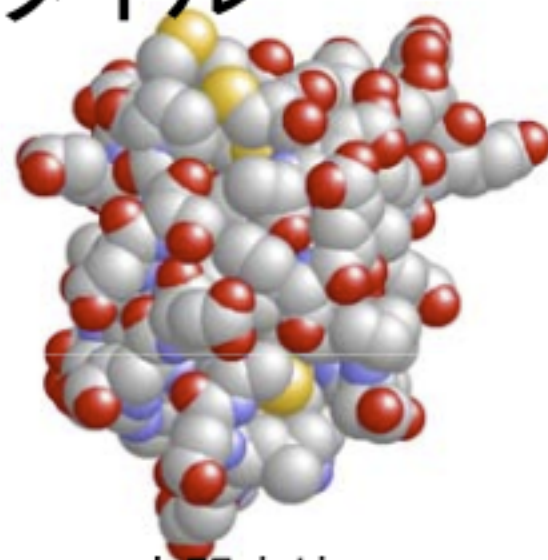
# 立体構造の描画スタイル



ワイアフレーム



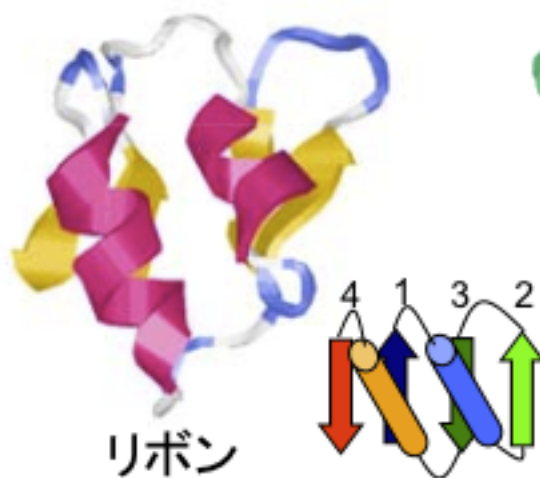
ボール&スティック



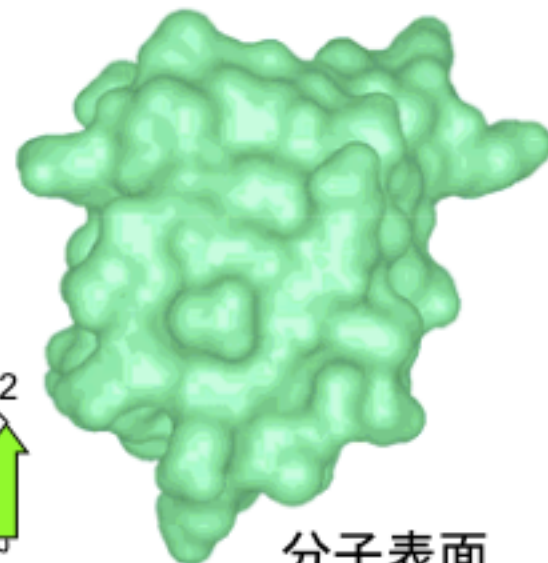
空間充填



バックボーン



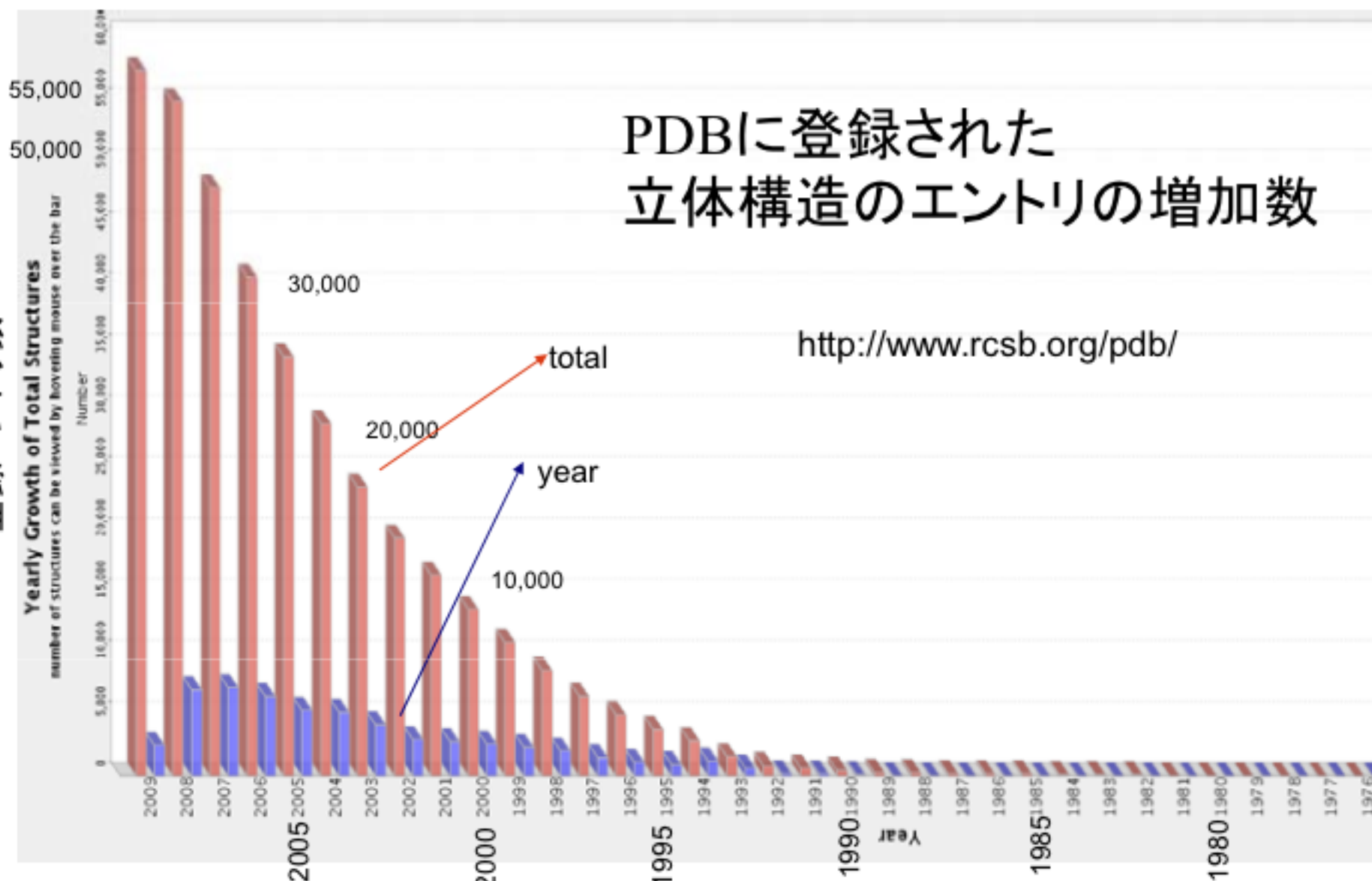
リボン



分子表面

PDBコード: 1fxd(ferredoxin II), Rasmol / Chimeプラグインで描画

登録エントリー数



アミノ酸配列 8,865,039

16-May-2009  
Non-redundant

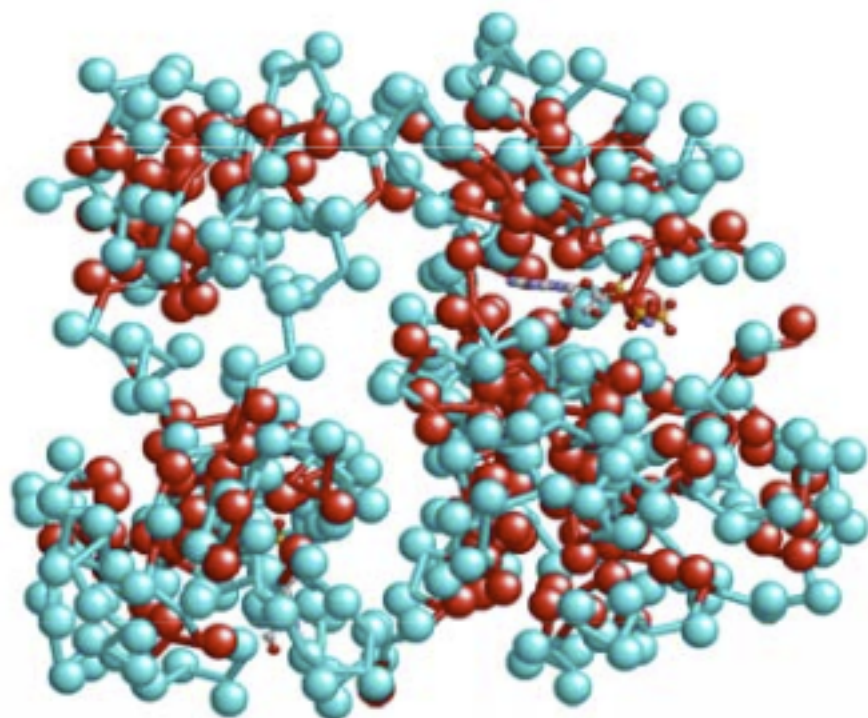
立体構造データ 62,768

13-May-2009  
Non-redundant chains

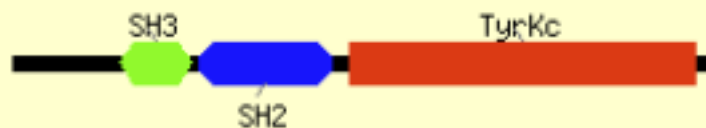
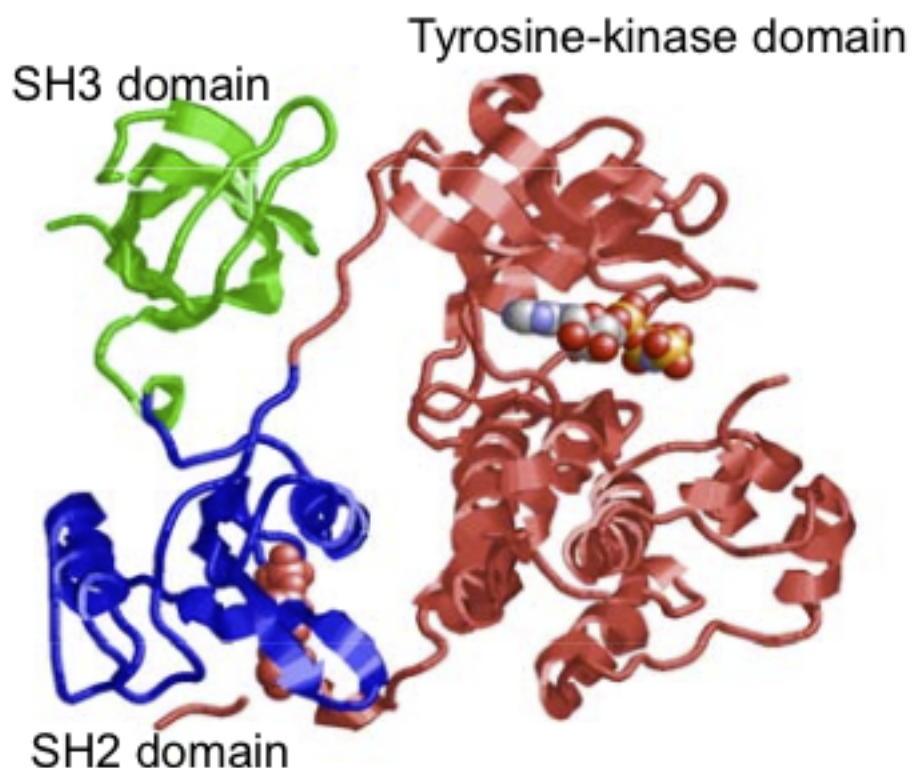


# ドメイン構造と疎水性の関係

Tyrosine protein kinase HCK (1ad5A, HCK\_HUMAN)



3つの分断された疎水性コア  
→ ドメイン構造



大きなタンパク質は、いくつかの構造上のまとまり(ドメイン)を持つことが多い

# 立体構造によるタンパク質の分類

- 配列による分類の延長。ドメイン単位の分類、進化的に関係のある(相同な)タンパク質を群にする(ファミリー)という考え方は同じ。
- 立体構造の類似性から、より遠縁の相同性を見つけ、より大きな群を作る(スーパーファミリー)
- スーパーファミリーをまとめたさらに大きなグループ(フォールド、クラス)
- 主にアミノ酸(C $\alpha$ レベル)のラフな構造の類似性に着目
- 分類対象は主に球状タンパク質

# 立体構造分類データベースSCOP

<http://scop.mrc-lmb.cam.ac.uk/scop/>

## 4階層で分類

Class (クラス)

<アナロジー>

Fold (フォールド)

Superfamily (スーパーファミリー)

Family (ファミリー)

<ホモロジー>

どの階層に分類するかは、  
配列の類似性  
立体構造の類似性  
分子機能の類似性  
機能部位の類似性  
を専門家が総合的に判断して決める

SCOP: Protein: Flavodoxin from *Desulfovibrio vulgaris* - Microsoft Inte...

ファイル(F) 編集(E) 表示(V) お気に入り(I) ツール(T) ヘルプ(H)















アドレス(A) <http://scop.mrc-lmb.cam.ac.uk/scop/data/scop.bdcce.fb.html>

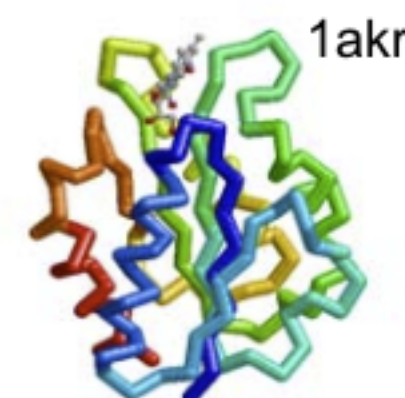
### Protein: Flavodoxin from *Desulfovibrio vulgaris*

**Lineage:**

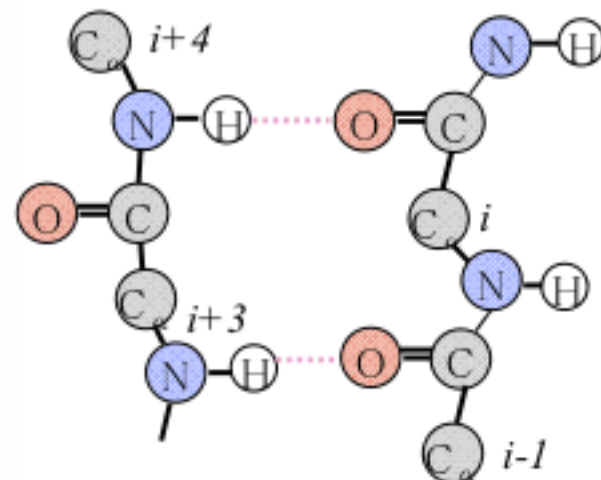
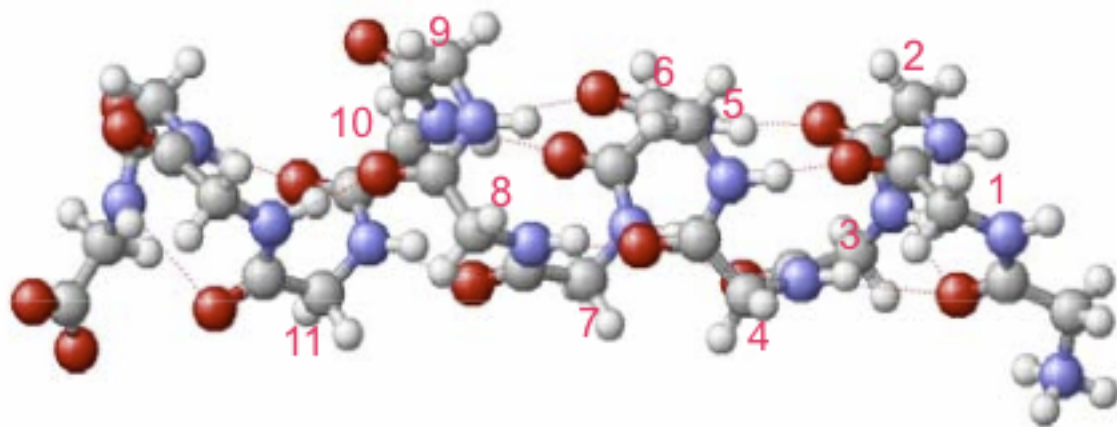
1. Root: [scop](#)
2. Class: [Alpha and beta proteins \(a/b\)](#) [51349]  
*Mainly parallel beta sheets (beta-alpha-beta units)*
3. Fold: [Flavodoxin-like](#) [52171]  
*3 layers, a/b/a; parallel beta-sheet of 5 strand, order 21345*
4. Superfamily: [Flavoproteins](#) [52218]
5. Family: [Flavodoxin-related](#) [52219]  
*binds FMN*
6. Protein: Flavodoxin [52220]
7. Species: [Desulfovibrio vulgaris](#) [52222]

**PDB Entry Domains:**

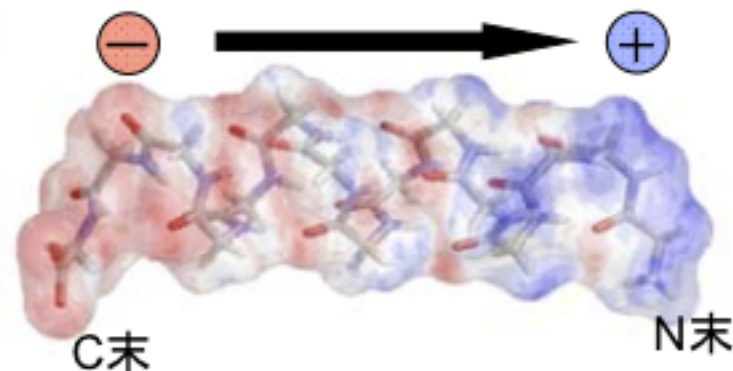
1. [1f4p](#) [59651]    
*complexed with fmn; mutant*
  1. [chain a](#) [59651]  
2. [1j8q](#) [62744]    
*complexed with fmn*
  1. [chain a](#) [62744]  
3. [1j9c](#) [62756]    
*complexed with fmn; mutant*
  1. [chain a](#) [62756]  
4. [1akx](#) [31152]    
*complexed with fmn; mutant*



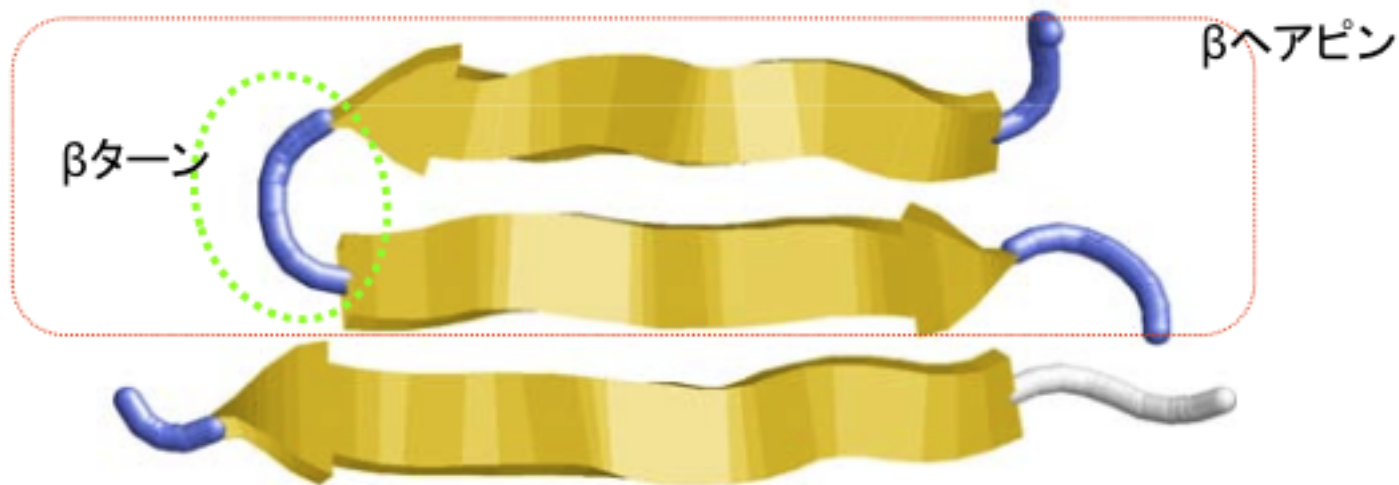
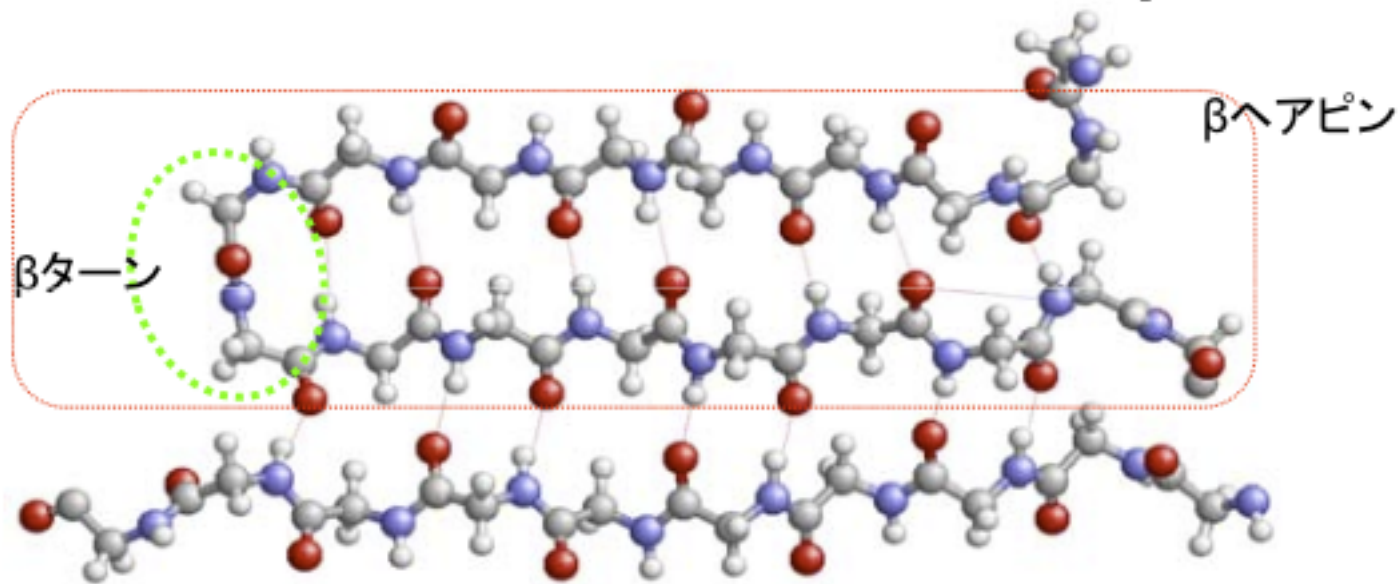
# 主鎖の水素結合： $\alpha$ ヘリックス



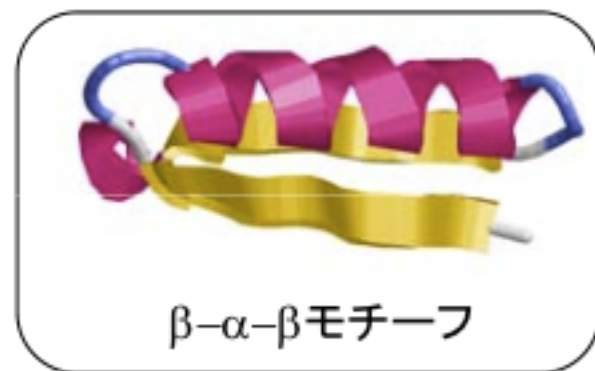
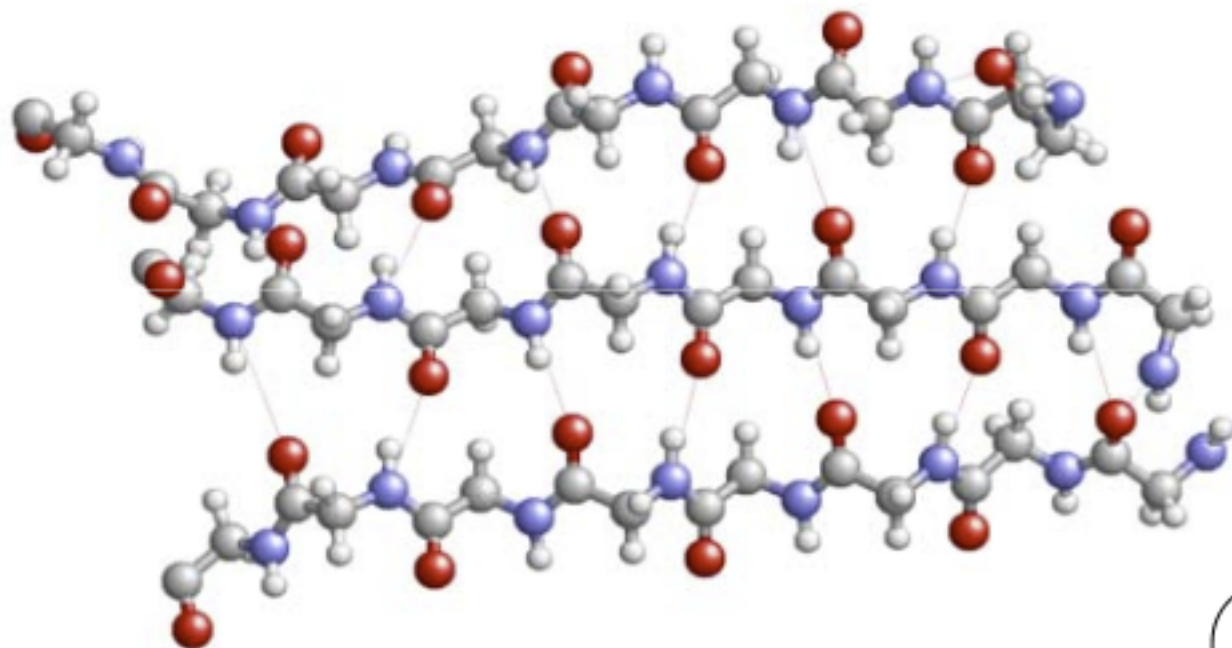
- $i$ 番目のCOが $i+4$ 番目のNHと水素結合を形成
- 3.6残基が1周期の右巻きらせん
- NH $\cdots$ O=Cが同じ向きに並ぶため、ヘリックス全体に電気双極子が発生



# 主鎖の水素結合：逆平行βシート



# 主鎖の水素結合：平行 $\beta$ シート



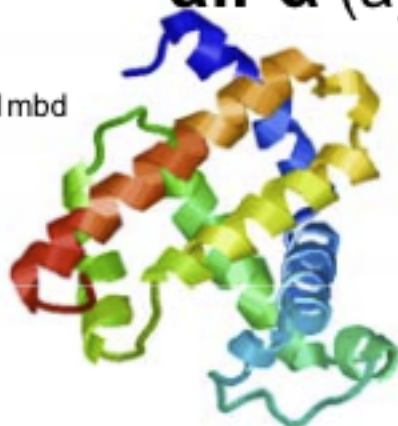
$\beta$ - $\alpha$ - $\beta$ モチーフ

平行 $\beta$ シートが $\alpha$ ヘリックスで  
接続された構造モチーフ

# クラス

## all- $\alpha$ (a)

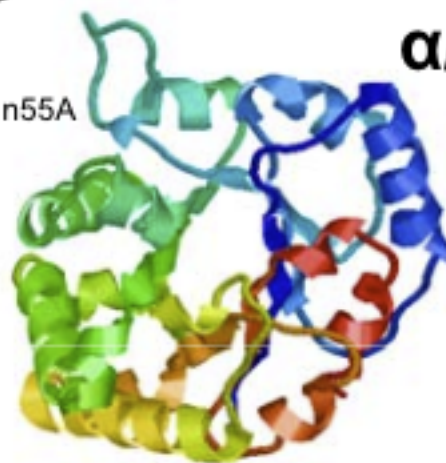
1mbd



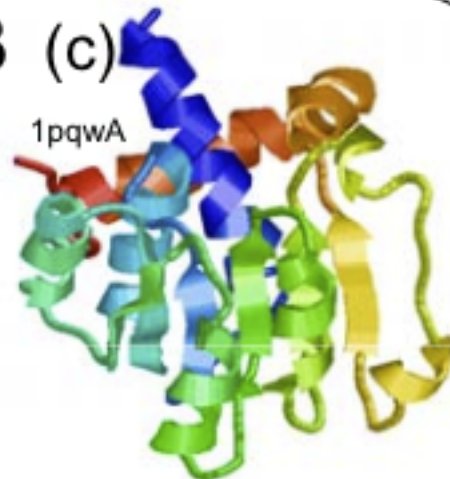
$\alpha$ -ヘリックスが中心

## $\alpha/\beta$ (c)

1n55A



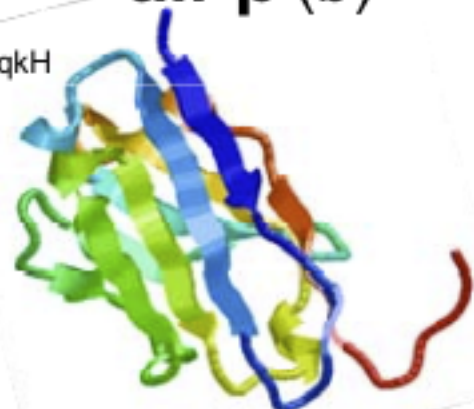
1pqwA



$\alpha$ -ヘリックスと $\beta$ -シートが配列上交互に現れる。  
平行 $\beta$ -シートが中心

## all- $\beta$ (b)

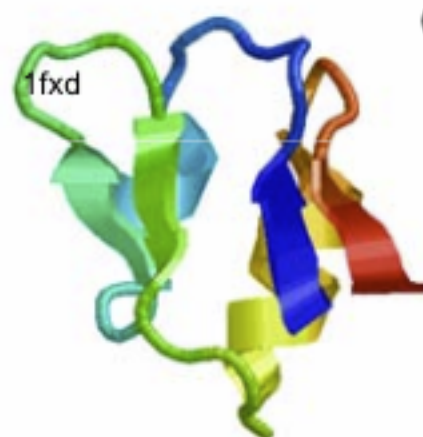
1mqkH



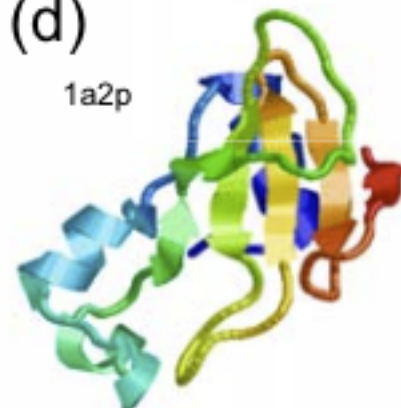
$\beta$ -シートが中心  
逆平行が多い

## $\alpha+\beta$ (d)

1fxd



1a2p



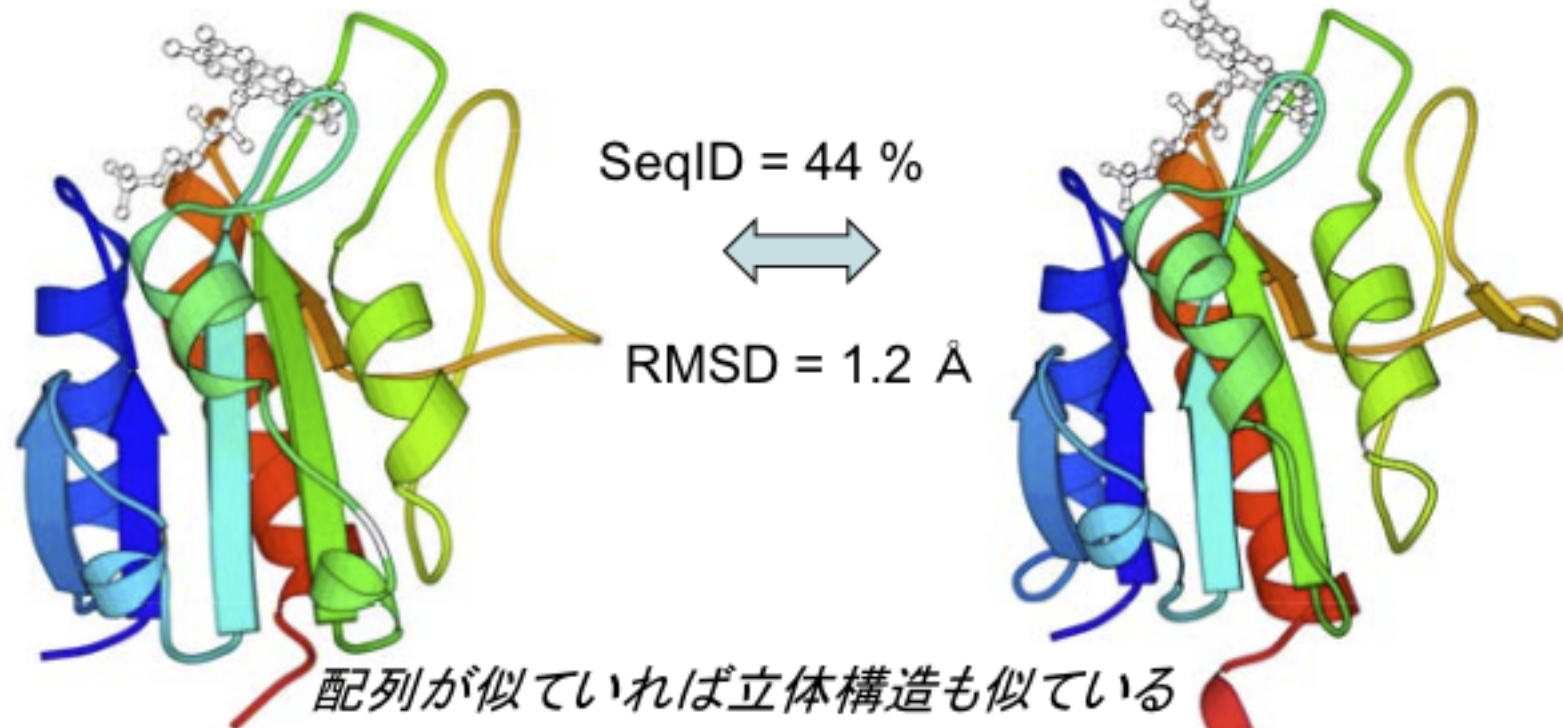
$\alpha$ -ヘリックスと $\beta$ -シートが混在、配列上の並びの規則はない  
逆平行と平行の $\beta$ -シートが混在

# アミノ酸配列と立体構造の関係

ピロリ菌と大腸菌のフラボドキシシン (同一残基率 SeqID 44%)

ピロリ菌(1fueA)

大腸菌(1ag9A)



```
1fueA  2:GKIGIFFGTDSGNAEAIAEKISKAIG--NAEVVDVAKASKEQFNGFTKVILVAPTAGAGD:59  
      ***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
```

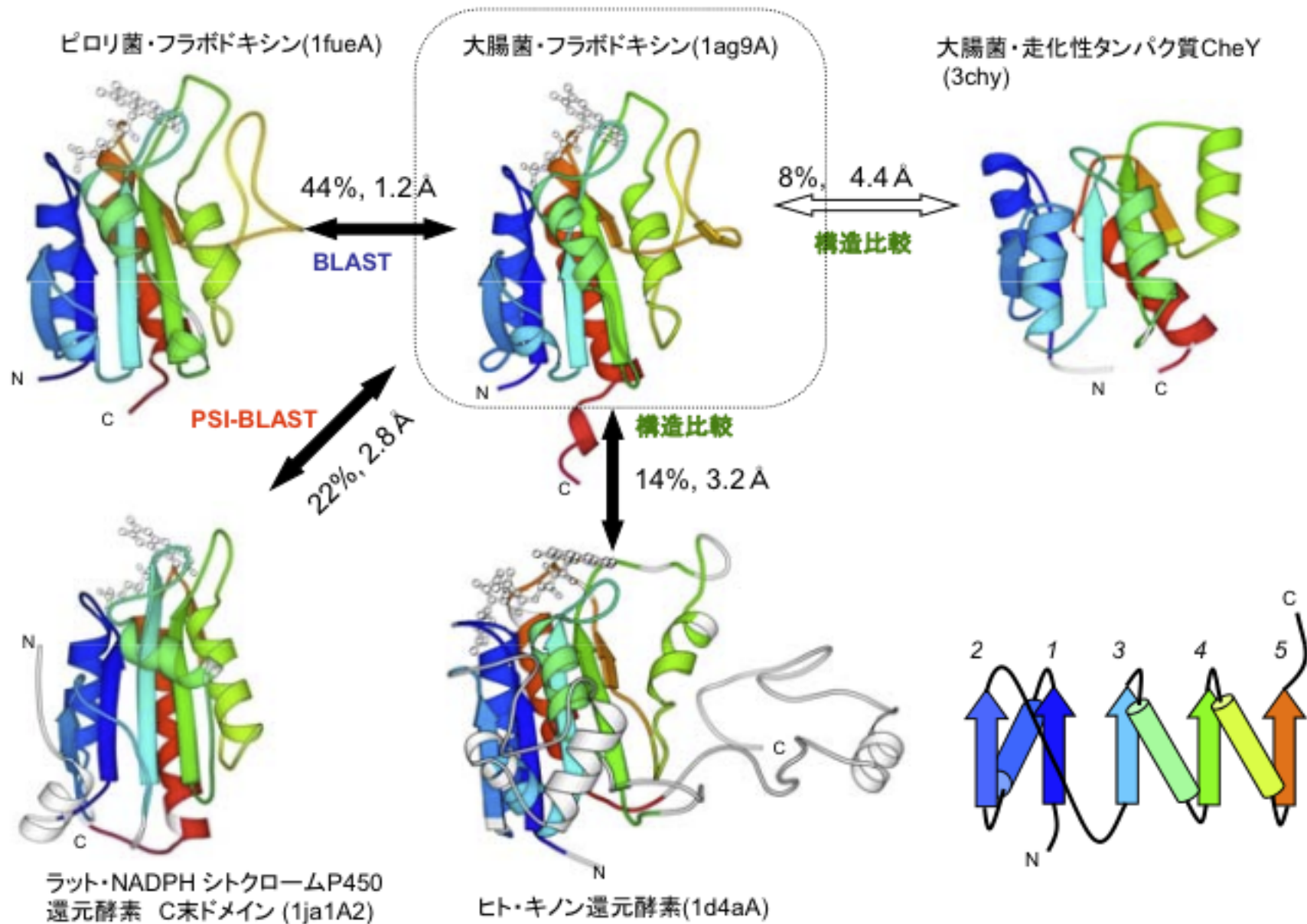
```
1ag9A  2:AITGIFFGSDTGNTENIAKMIQQLGKDVADVHDIKSSKEDLEAYDILLGIP TWYYGE:61
```

```
1fueA 60:LQTDWEDFLGTLEASD-FANKTIGLVGLGDQDTYSETFAEGIFHIYEKAK--AGKVVGQT:116  
      * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
```

```
1ag9A 62:AQCDWDDFFPTLE-EIDFNGKLVALFGCGDQEDYAEYFCDALGTIRDIEPRGATIVGHW:120
```

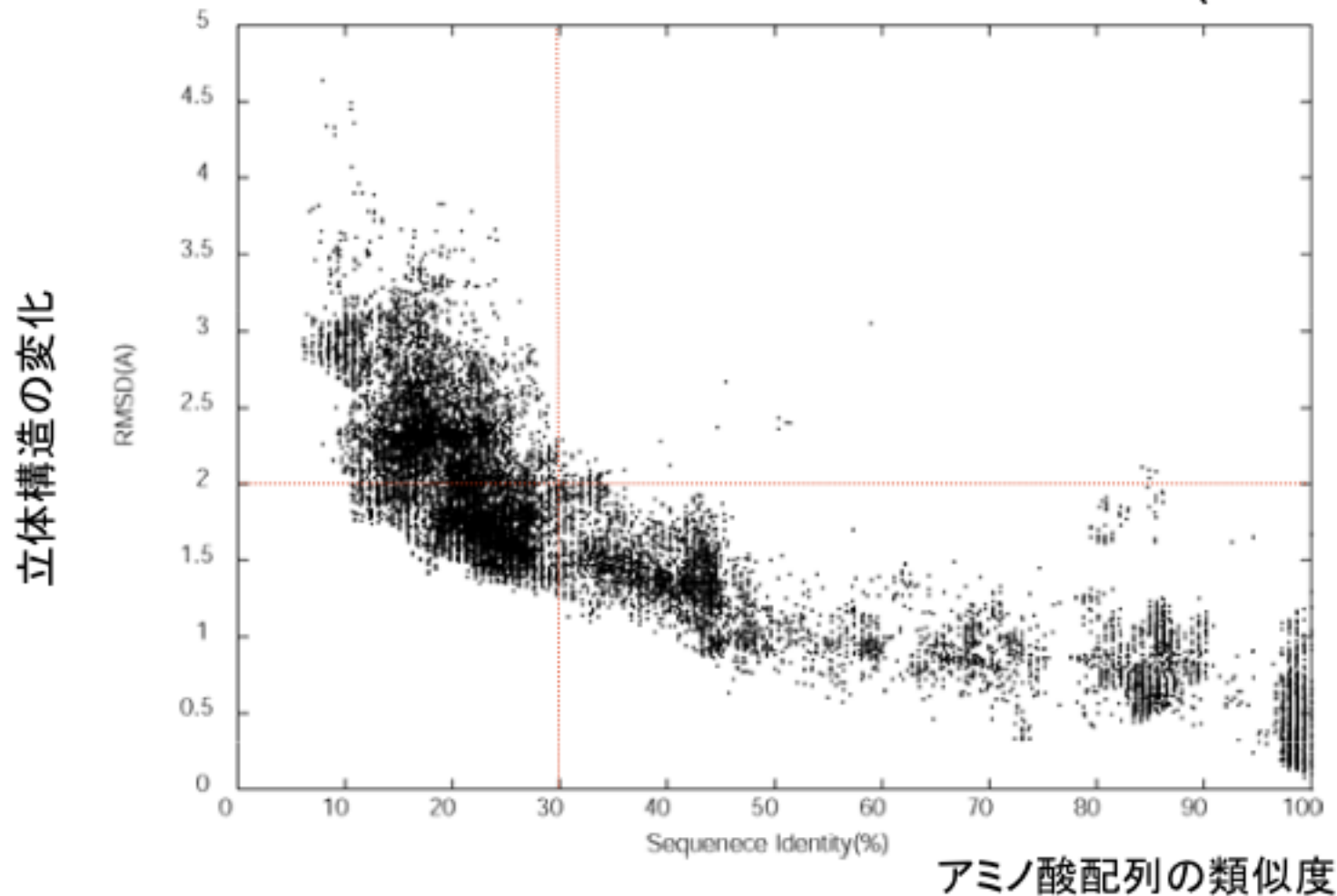


# アミノ酸配列がほとんど似ていなくても立体構造は似ている場合がある



構造は配列より進化的に保存がよい → 構造比較から新たなホモログが発見できる可能性

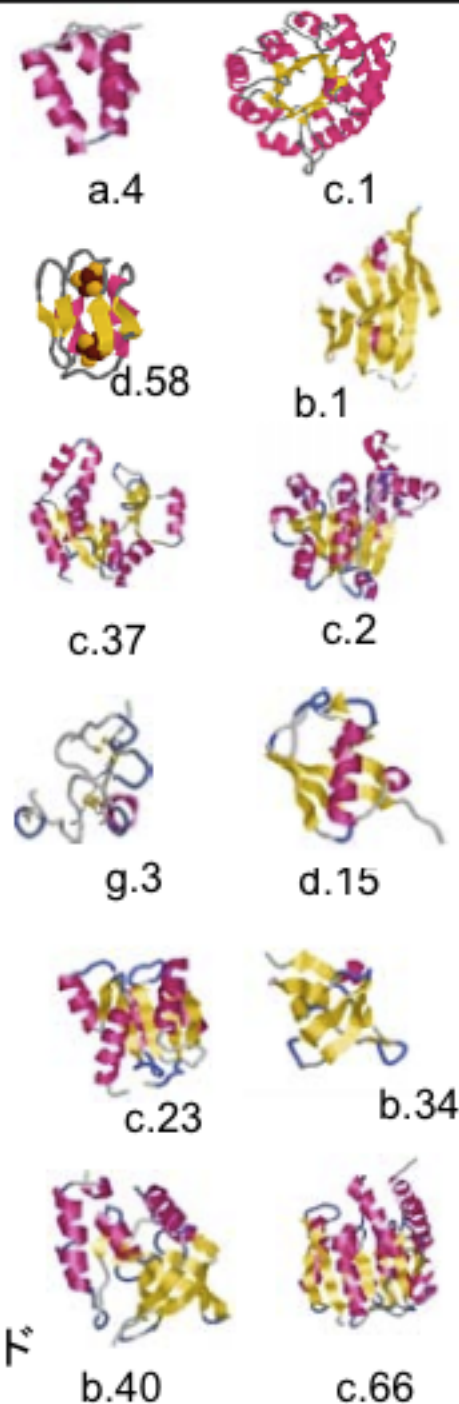
# アミノ酸配列の変化と立体構造の変化の相関(グロビン族)



立体構造の変化はアミノ酸配列の変化と相関  
配列が30%以上一致していれば、RMSDは2 Å 以下

# 多く現れるフォールド(出現ドメイン数順)

	フォールド名 (SCOP1.73による。クラスfhijkは除く)	ドメインの数	スーパーファミリーの数
<b>a.4</b>	<b>DNA/RNA-binding 3-helical bundle</b>	<b>292</b>	<b>14</b>
<b>c.1</b>	<b>TIM beta/alpha-barrel</b>	<b>269</b>	<b>33</b>
<b>d.58</b>	<b>Ferredoxin-like</b>	<b>248</b>	<b>55</b>
<b>b.1</b>	<b>Immunoglobulin-like beta sandwich</b>	<b>246</b>	<b>27</b>
c.37	P-loop nucleoside triphosphate hydrolase	235	1
c.2	NAD(P)-binding Rossmann-fold domains	168	1
<b>g.3</b>	<b>Knottins</b>	<b>154</b>	<b>19</b>
<b>d.15</b>	<b>Beta-Grasp(ubiquitin-like)</b>	<b>131</b>	<b>13</b>
<b>c.23</b>	<b>Flavodoxin-like</b>	<b>118</b>	<b>15</b>
<b>b.34</b>	<b>SH3-like barrel</b>	<b>117</b>	<b>18</b>
<b>b.40</b>	<b>OB-fold</b>	<b>100</b>	<b>12</b>
c.66	SAM-dependent methyltransferases	95	1



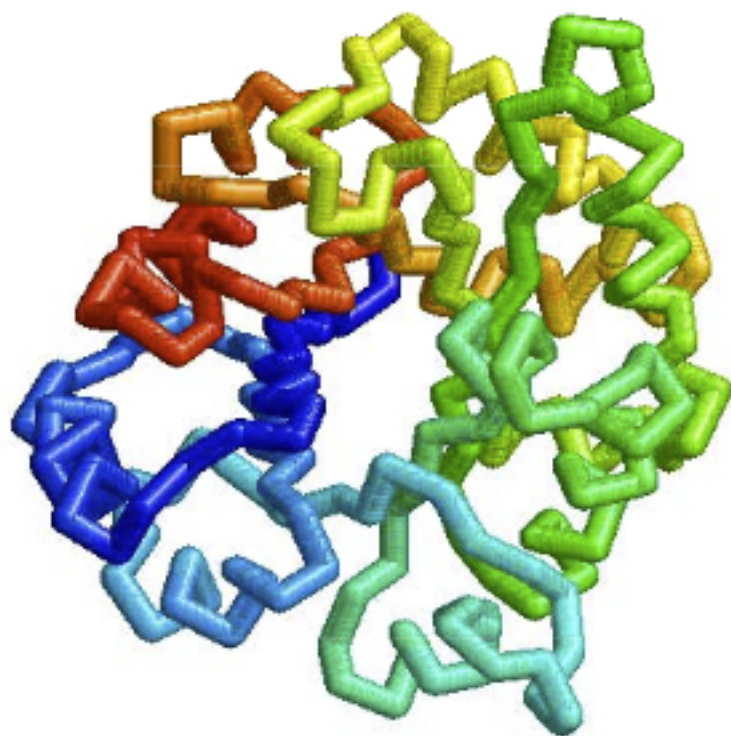
太字はスーパーフォールド: 多くのスーパーファミリーを含むフォールド

# TIMバレル

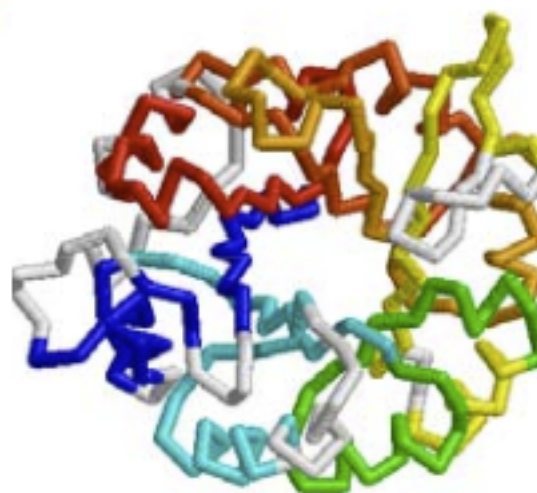
## TIM beta/alpha barrel (c.1)

八本の $\beta$ ストランドと $\alpha$ ヘリックスが交互に組み合わさり、対称的な樽(barrel)構造を形成する。中央の樽構造は平行の $\beta$ シートからなる。

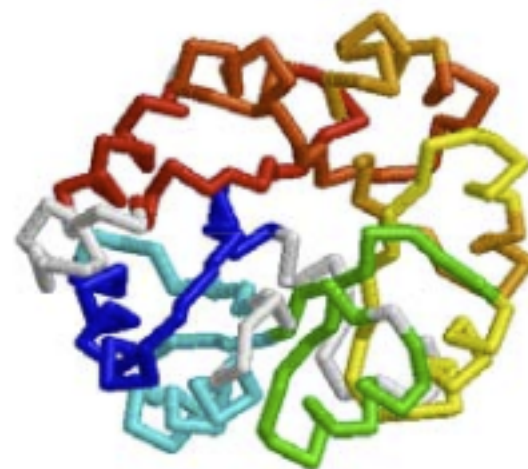
全般に解糖系の酵素が多い。基質、酵素反応は極めて多彩。



Triosephosphate isomerase  
1n55A(c.1.1.1)



Imidazole glycerol  
phosphate synthase  
subunit hisF  
1thfD(c.1.2.1)



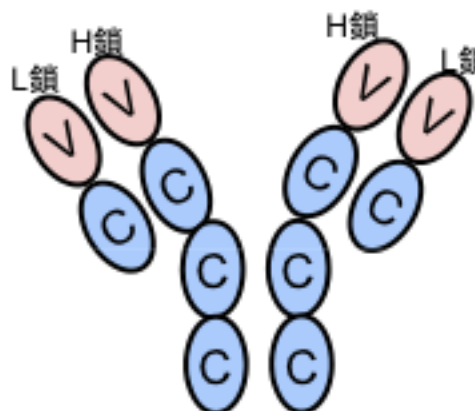
KHG/KDPG aldolase  
1euaA(c.1.10.1)

# 免疫グロブリン様

## Immunoglobulin-like beta sandwich(b.1)

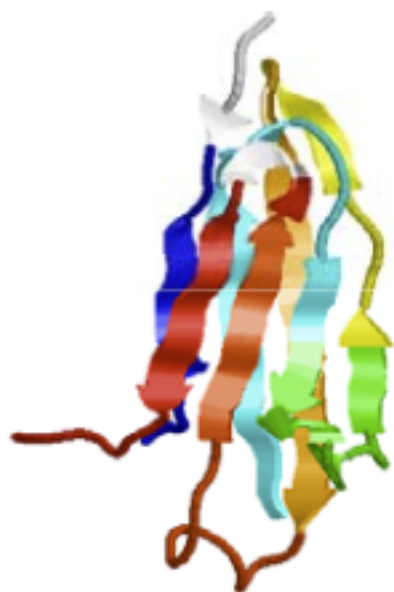


Immunoglobulin  
Heavy chain variable  
domain. 1mjuH1(b.1.1.1)



免疫グロブリン分子はH鎖とL鎖からなり、それぞれ、免疫グロブリン様ドメインからできている。

細胞表面あるいは分泌蛋白質が多い。免疫や分子認識に関する機能を担うことが多い。



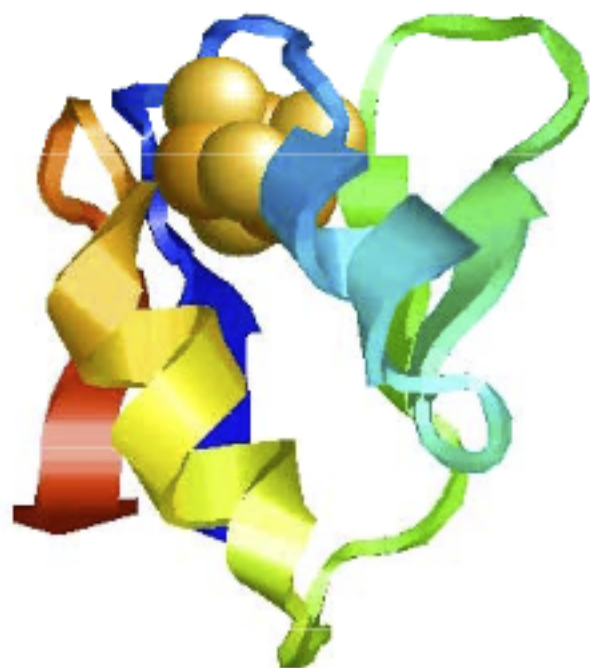
Immunoglobulin  
Heavy chain constant  
domain 1mjuH2(b.1.1.2)



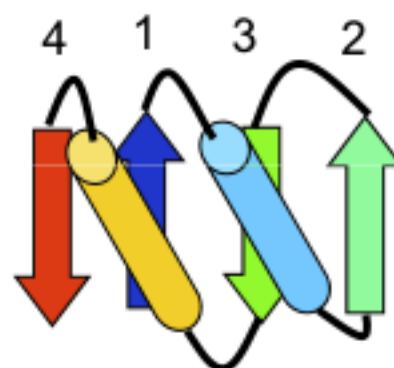
Macromomycin  
1noaA (b.1.7.1)

4本のβストランドからなるβシートが二枚、サンドイッチ状に重なった構造をとる。逆平行のβシートが主。

# フェレドキシン様 Ferredoxin-like (d.58)



4Fe-4S Ferredoxin(1fxd,d.58.1)



4本の逆平行の $\beta$ ストランドと  
2本の $\alpha$ ヘリックスからなる。

分子機能は極めて多彩。



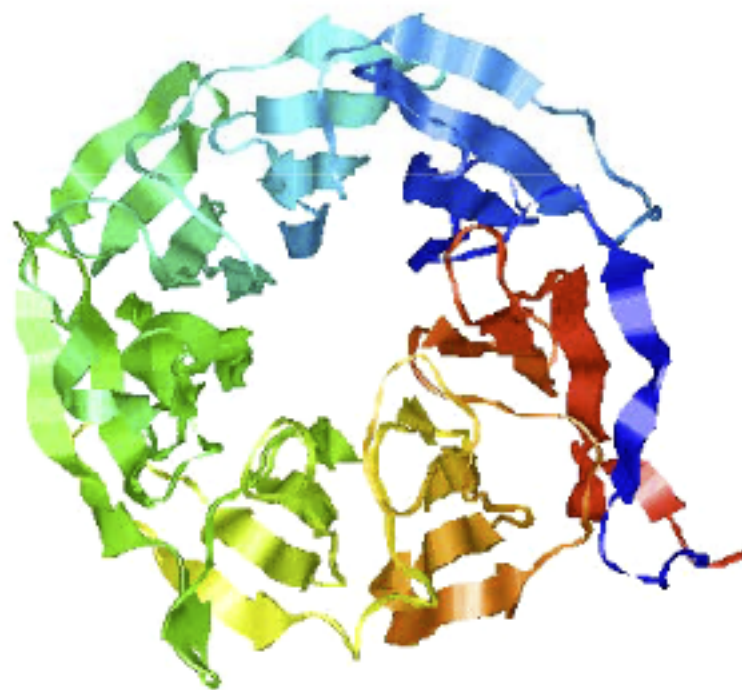
U1A RNA binding domain (1nu4A,d.58.7.1)



CheY binding domain of CheA (1eayC,d.58.24)

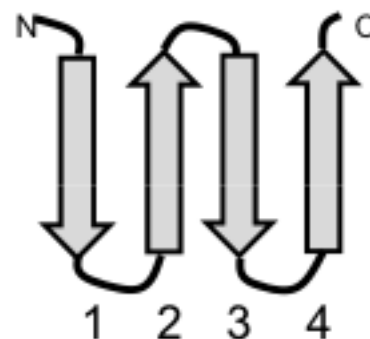
# 7枚羽 $\beta$ プロペラ

7-bladed beta-propeller (b.69)

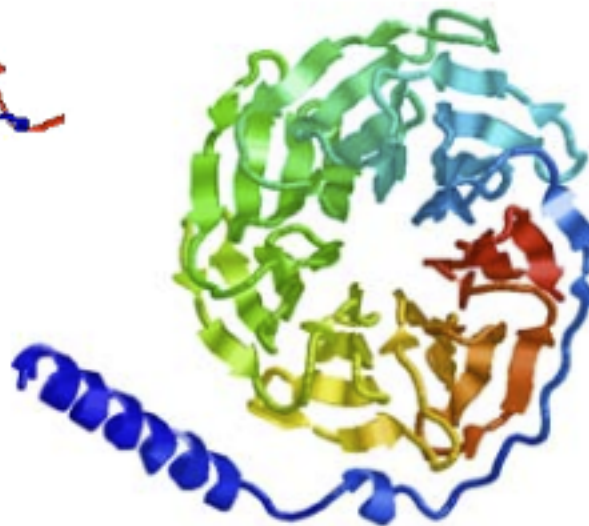


Galactose oxydase  
domain3, 1k3iA3(b.69.1.1)

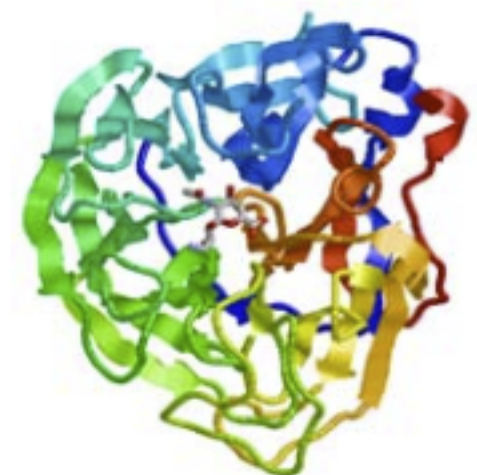
細胞膜付近の、シグナル伝達や  
糖結合に関わることが多い。



のユニットが7回、  
円環状に繰り返された  
フォールド



Guanine nucleotide-binding  
protein subunit beta-1  
1gotB(b.69.4.1)



Influenza Neuraminidase  
1f8dA(b.68.1.1)

6枚羽  $\beta$ プロペラ

















