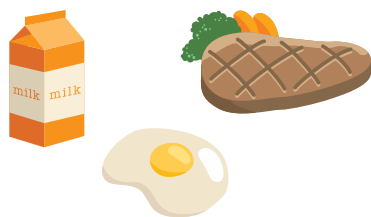


タンパク質のかたちと PDB

タンパク質とは？



生きものは、水、炭水化物、油（脂肪）、ビタミン、ミネラル、タンパク質などいろんなものでできています。これらはどれも「分子」と呼ばれる非常に小さな単位がたくさん集まったものです。

生きものが活動するにはつくる、こわす、運ぶなどさまざまな働きが必要になりますが、その時重要な役割を果たすのがタンパク質です。

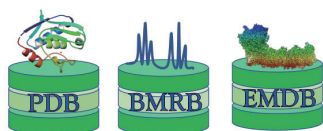
タンパク質分子がどのようなかたちをしているのかを調べると、タンパク質が働くしくみを詳しく知ることができます。

タンパク質が何からできているのか？など基本的なことは4ページで説明しています。

かたちの調べ方

かたちがわかったら

PDB とは



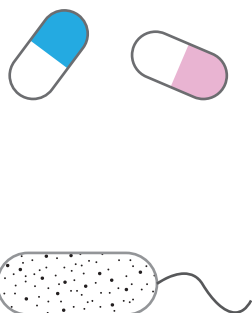
タンパク質の分子は幅が数 nm ～数十 nm (nm: ナノメートル=10 億分の 1m) 程度と非常に小さなものです。そんな小さなもののかたちを調べる方法として代表的なものが **X 線結晶解析法**、**核磁気共鳴分光法**、**低温電子顕微鏡**です。2～4 ページでその内容をもう少し詳しく紹介しています。

タンパク質のかたちを解明しその成果を論文に発表するときは、**PDB (タンパク質構造データバンク)** にデータを登録して ID を取得し、その ID を論文に書くルールになっています。そのため PDB にはタンパク質のかたちに関する情報が世界中から集まってくるのです。

PDB は 1971 年に設立された世界でただ一つのデータバンクです。分子の「かたち」に関する情報は人類が得た貴重な資産で、誰でも自由に使えるようにしておくことが必要と考えた人々がつくりました。たった 7 件のデータで始まった PDB は、技術の進歩によって特に近年は急激に登録データが増加し、2019 年 8 月時点のデータ数は約 155,000 件にものぼっています。

現在 PDB は米国にある **RCSB PDB**、**BMRB**、欧州 (英国) にある **PDBe**、そして日本にある **PDBj** の 4 チームで協力して **wwPDB** (国際タンパク質構造データバンク) という組織をつくり運営しています。各チームは自分の国の予算で運営しており、PDBj は文部科学省などからの予算を使って大阪大学蛋白質研究所内で運営しています。

何の役に立つ？



タンパク質のかたちに関する情報はこんなことに役立てられています。

薬の開発がしやすくなる

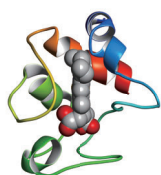
ある病気を治す薬を探す時、たくさんある化合物をやみくもに効くのかを試していくのは時間もお金もかかって非効率です。しかし分子の「かたち」(立体構造) の情報があると、薬になりそうな化合物を絞り込むことができます。インフルエンザにかかった時に処方される薬の一つタミフル(一般名: オセルタミビル) はこのような情報を利用して開発された薬の事例として知られています。

生きもののしくみを理解するのに役立つ

時計のしくみを理解するには時計の部品の構造を理解する必要があるように、生きもののしくみを理解するには生き物の部品である生体分子の構造を理解する必要があります。生体分子の一つであるタンパク質は、生きものの中で起きているさまざまな化学反応に関わっています。構造の理解は化学反応の理解に役立つだけでなく、人工的に改変するといったことにも応用できます。

新しく構造を解析するのに役立つ

あるタンパク質の構造がわかると、それによく似たタンパク質の構造を得るための大きな手がかりとなります。現在 PDB に登録される構造データの多くは、その前に PDB で公開された別の構造データを利用して解析されたものです。さらに広い意味でいうなら、現在の立体構造解析は必ず何らかの形で以前の構造データを参考にします。

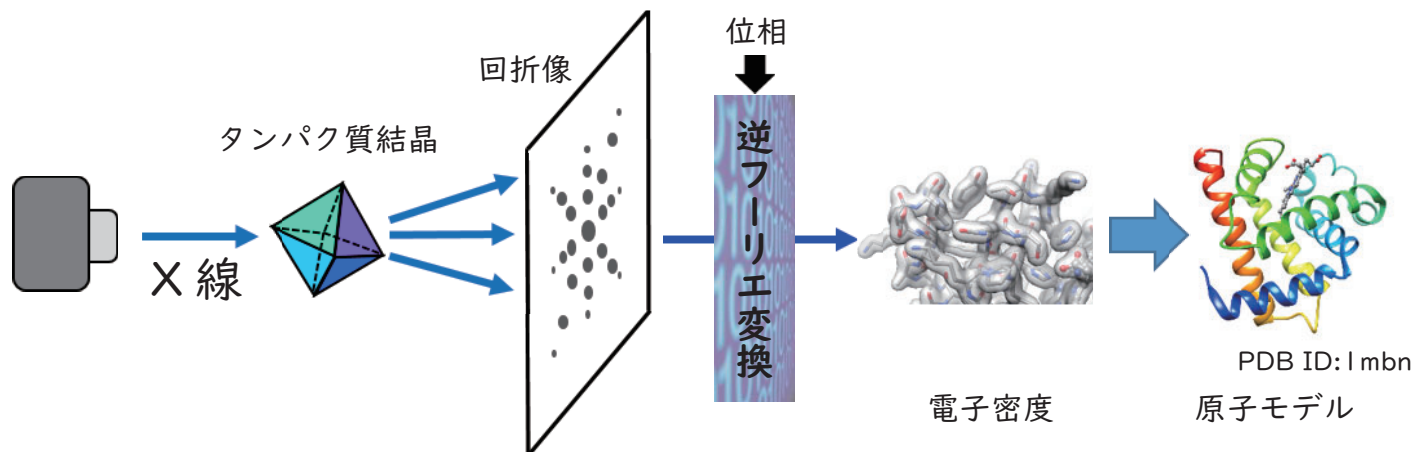


PDB: 1cyc



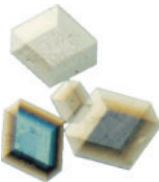
タンパク質の形を決める方法 (1)

X線結晶解析法



タンパク質の結晶化

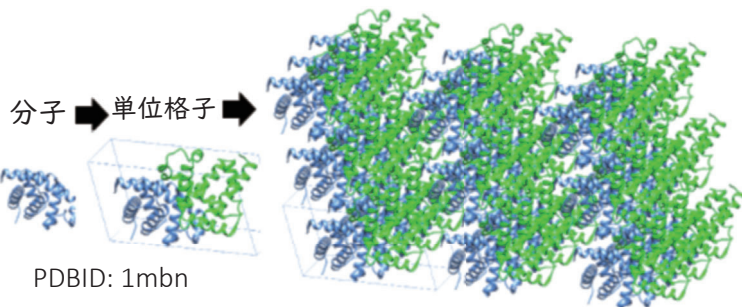
純度が高く濃いタンパク質溶液を用意し、沈殿剤を加えて、結晶を作ります。



※X線の波長は $1\text{\AA}$ (10^{-10}m) で原子半径に近い。可視光の波長は 500nm ($5 \times 10^{-7}\text{m}$)

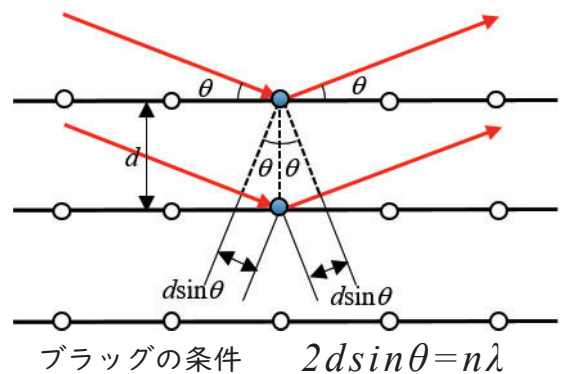
タンパク質の結晶の大きさは $0.01\text{--}1\text{mm}$ ぐらいです。

結晶



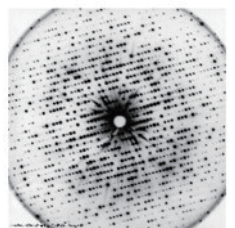
タンパク質一つの大きさは $50\text{\AA}$ (0.000005mm) ぐらいです。たくさんのタンパク質がきちんと並んで結晶を作ります。

結晶によるX線の回折



X線を結晶にあてると、分子にぶつかって向きを変え（散乱）、X線が進む距離のちがいが波長 λ の整数倍となるような角度（ブラッグの条件）の方向に、黒い点として観察されます（回折点）。たくさんの黒い点は、結晶の様々な面での回折に対応し、その強さには分子の形の情報が含まれています（回折強度）。これをうまく計算すると（位相を推定して逆フーリエ変換する）、分子の形（電子密度）を知ることができます。

タンパク質結晶の回折像



X線結晶解析の装置



大型放射光施設 SPring-8



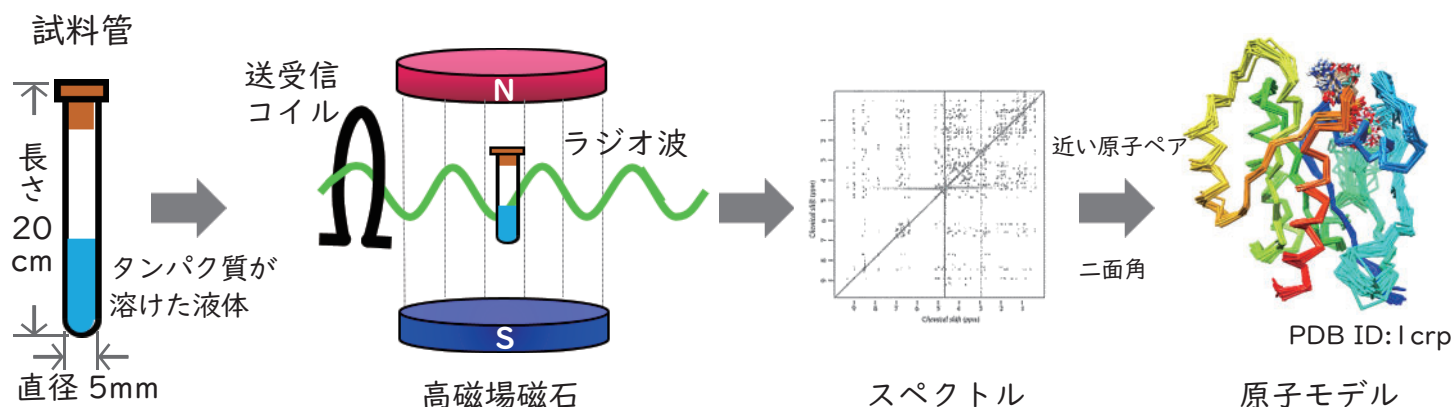
SPring-8 実験ホール



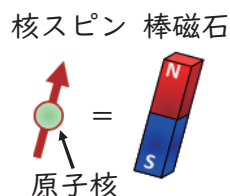
結晶をループにマウントして測定装置にセット

X線結晶解析の装置は、X線発生装置、結晶を置く台（ゴニオメータ）、検出器（カメラ）からなります。大きなタンパク質からの高い分解能での測定には巨大な加速器（シンクロトロン）からの強力な放射光X線を使います。兵庫県西播磨にある SPring-8 は世界最大の放射光施設です。

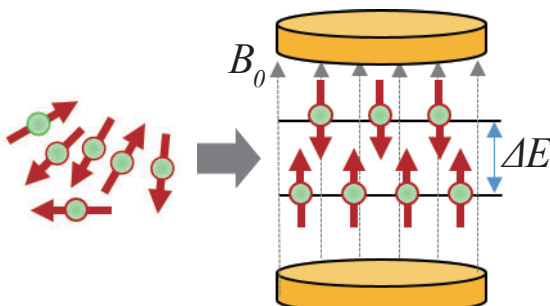
タンパク質の形を決める方法 (2) 核磁気共鳴 (NMR) 分光法



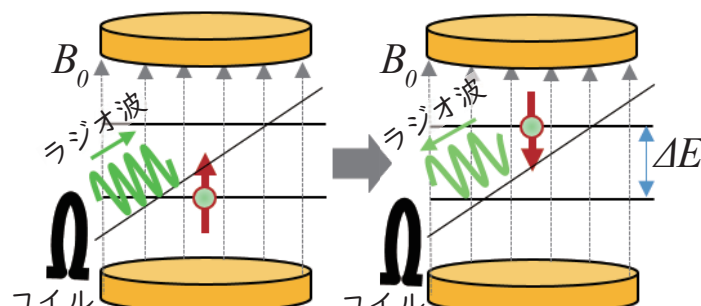
核スピンは棒磁石



強い磁場で核スピンがそろう



核スピンはある周波数のラジオ波に共鳴



ある種の原子核は棒磁石の性質を持っています。これを核スピンといいます。

核スピンの向きはばらばらです。しかし、強い磁場の中に入ると、向きがそろい、エネルギーが低い方向と高い方向の二つに分かれます。

ある周波数の電磁波（ラジオ波）をコイルから与えると、核スピンはそれを吸収し、高エネルギーに上がります。これを共鳴 (resonance) と呼びます。その後、核スピンは、ラジオ波を放出して元に戻ります。そのとき放出するラジオ波を同じコイルで検出します。

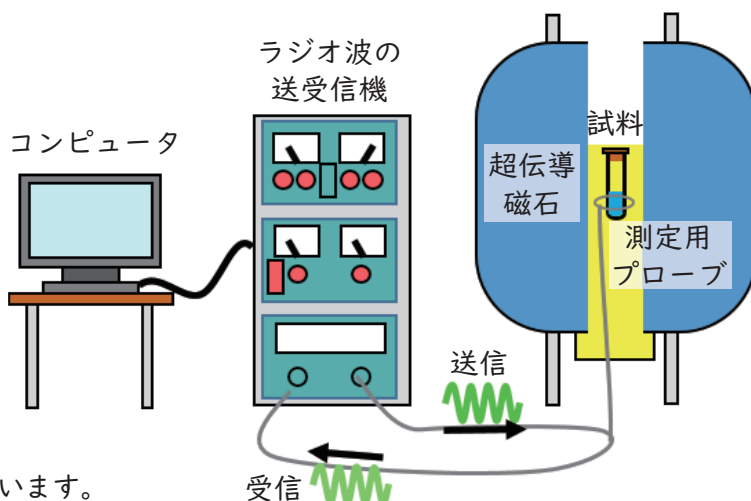
※与える電磁波の周波数は 100MHz ぐらいです。テレビ放送で使われている VHF や UHF の周波数の電磁波と近いのでラジオ波と呼びます。

※共鳴する周波数は、原子の種類や環境によって変わります。
※共鳴した原子は、近くにある別の原子の核スピンに影響します。これを核オーバーハウザー効果 (NOE) といいます。NOE を調べることで、空間的に近いアミノ酸の組がわかり、それを満たす原子配置を探すことでタンパク質の形がわかります。

核磁気共鳴分光法の装置

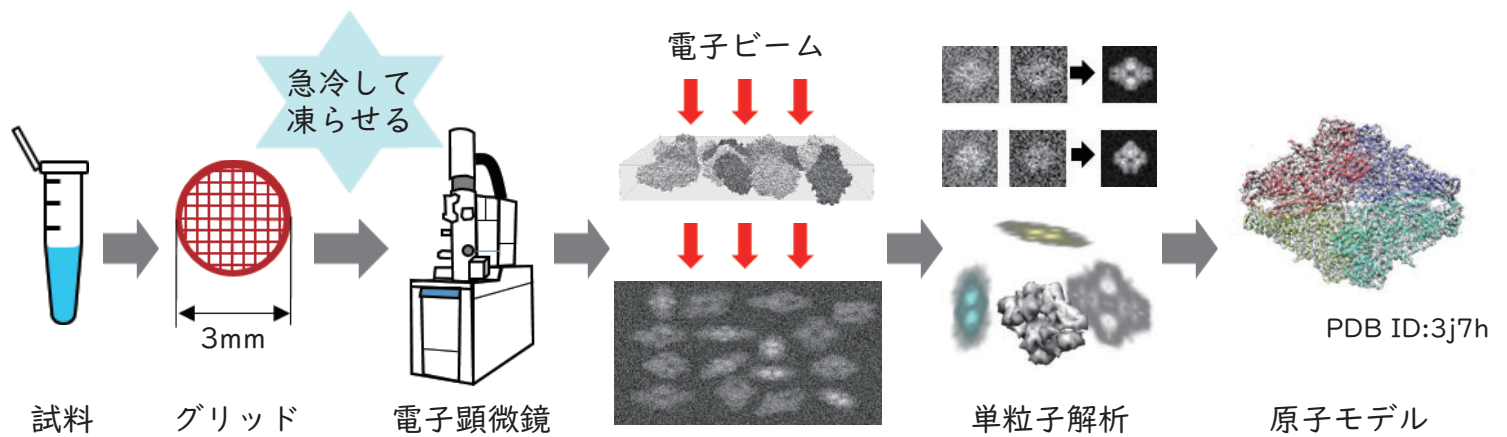


超伝導磁石を用いて、非常に強い磁場を作ります。磁石は液体窒素と液体ヘリウムで -269°C まで冷やされています。磁場が非常に強いため外枠は木で作られています。

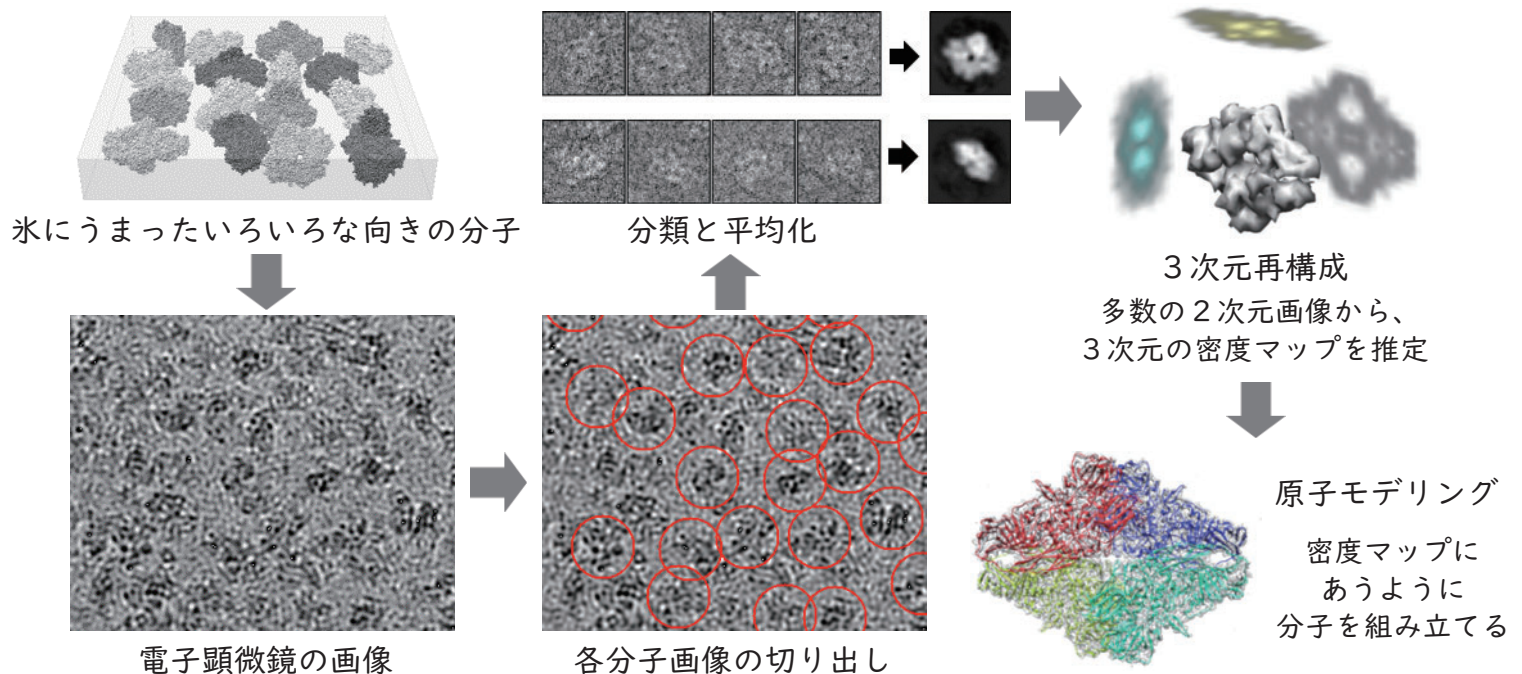


タンパク質の形を決める方法 (3)

低温電子顕微鏡法

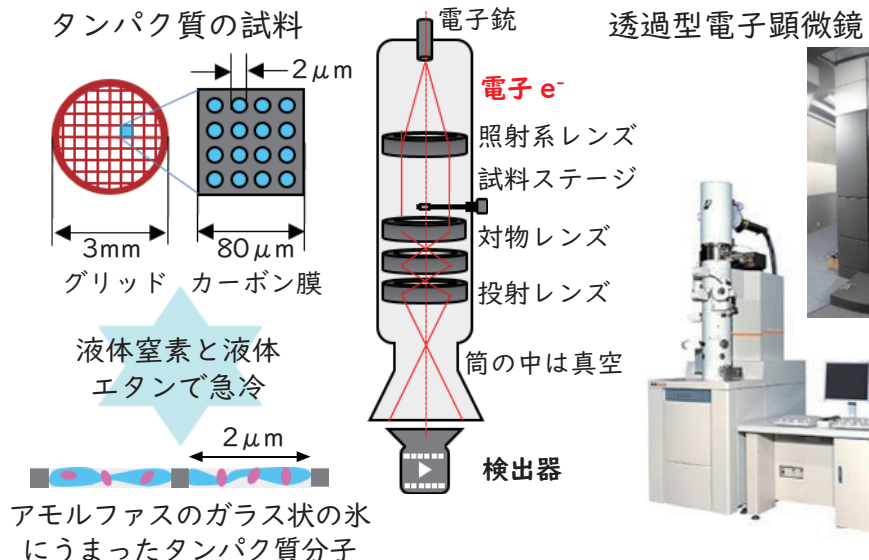


単粒子解析：たくさんの2次元の画像から3次元の形を決める方法



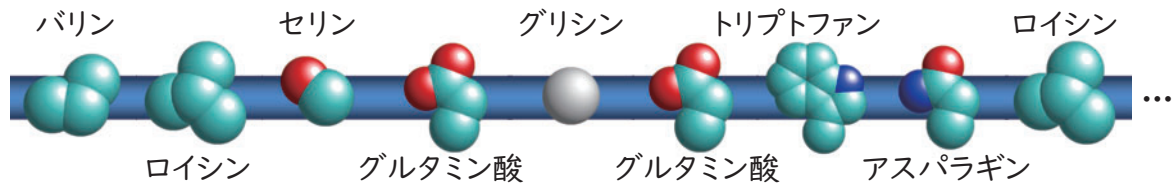
低温電子顕微鏡法の装置

電子顕微鏡は、光ではなく、電子の波を用いた顕微鏡です。電子は、粒と波の両方の性質を持っています。真空にした筒の中で、高電圧をかけて、電子を飛ばすと、短い波長 ($0.02\text{\AA} = 2 \times 10^{-12}\text{m}$ ぐらい) の電子波を作ることができます。電子波を、試料にとって、検出器で観察します。ガラスのレンズではなく、電磁石を用いた磁界レンズを用います。水に溶けたタンパク質を真空に置くと蒸発してしまいます。そこで、タンパク質溶液を急速凍結させた状態で観察します。



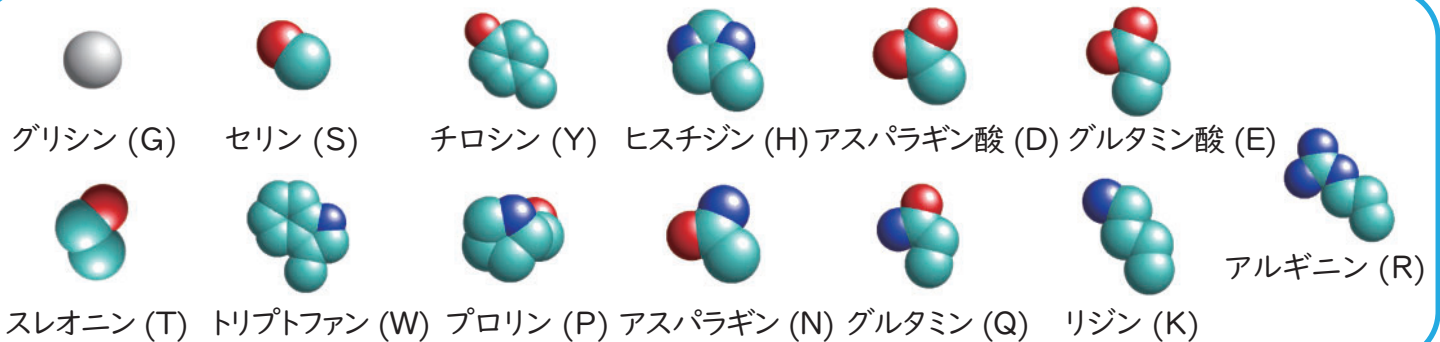
タンパク質とは

いろいろなアミノ酸がならんだひもです



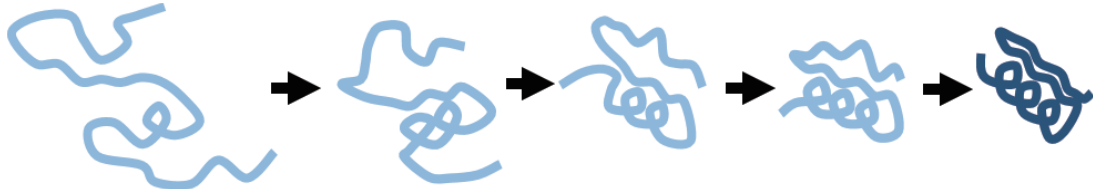
アミノ酸はぜんぶで20種類あります

← 水にとけにくい

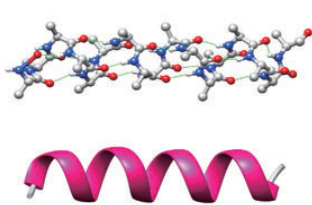


→ 水にとけやすい

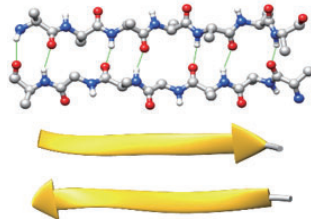
タンパク質のひもは ある形に自分でおりたたまります



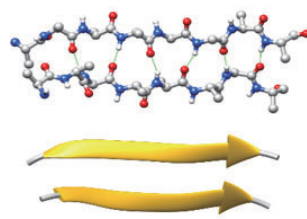
タンパク質によくあらわれるかたちの部品 (二次構造)



α-ヘリックス
(らせん)



β-シート (逆平行)



β-シート (平行)

※矢印一本は
β-ストランドと呼びます。

アミノ酸の並び方によっておりたたまる形はちがいます
いろいろな形をつかっていろいろな仕事をします

ミオグロビン (PDB ID: 1mbn)



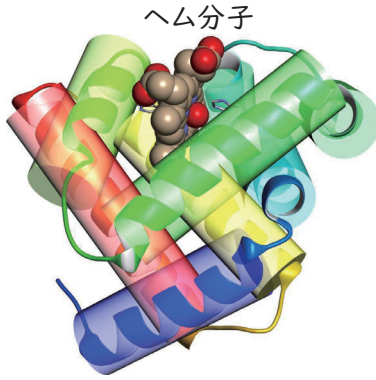
光るタンパク質 GFP (PDB ID: 1ema)



SYG が CRO に変化

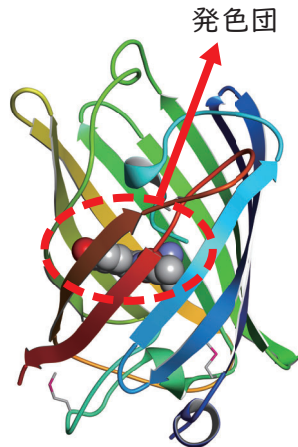
タンパク質のいろいろな形

筋肉の中で酸素分子をためておくタンパク質です。8本の α ヘリックスからできています。血中のヘモグロビンと似ています。ヘム分子を結合し、その中央の鉄原子に酸素分子が結合します。ミオグロビンは、最初に立体構造が決定されたタンパク質です。1958年にイギリスのジョン・ケンドリューが、X線結晶解析で決めました。



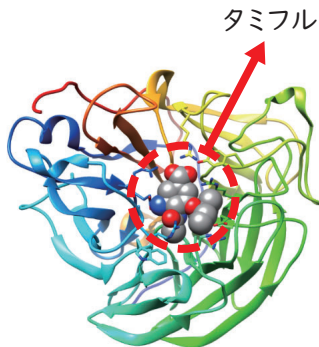
クジラのみオグロビン
(PDB ID: 1mbn)

オワンクラゲのタンパク質で、光を吸収して緑色の蛍光を出します。1962年に下村脩によって最初に報告されました。その後、細胞の中に組みこむことで、発現・局在の目印として広く実験に使われるようになりました。238個のアミノ酸からなり、11本の β ストランドが、筒状の構造（「 β -バレル」）を作ります。GFPの発色団は、 β バレルの内側にあります。アミノ酸配列の中の三つのアミノ酸Ser65-Tyr66-Gly67が化学反応を起こして発色団になります。



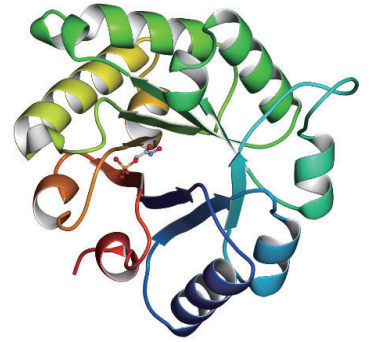
クラゲの緑色蛍光タンパク質 GFP
(PDB ID: 1ema)

ヒトの細胞の中で増殖したインフルエンザウィルスが、外に放たれるために必要なタンパク質です。糖タンパク質のノイラミン酸を切断します。6枚の β シートからなる「 β プロペラ」という形をしています。このタンパク質のはたらきをおさえれば、病気の進行をおさえることができます。中央に結合している分子がインフルエンザ治療薬のタミフルです。この薬の開発には、タンパク質の立体構造のデータが使われました。



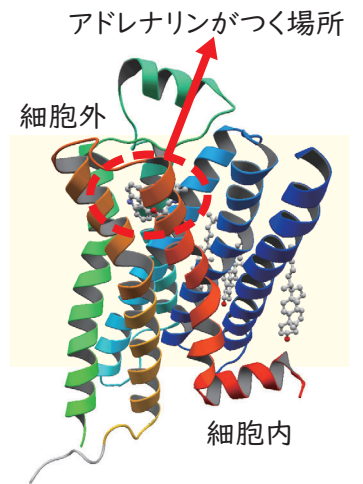
インフルエンザウィルスのノイラミニダーゼ
(PDB ID: 2ht7)

デンプンをエネルギーに変えるときに必要なタンパク質の一つです。ほぼ全ての生物が持っています。「 β/α バレル」と呼ばれる、たる型の構造です。8本の β ストランドと8本の α ヘリックスからなります。 β/α バレル型のタンパク質は他にもたくさんあります。



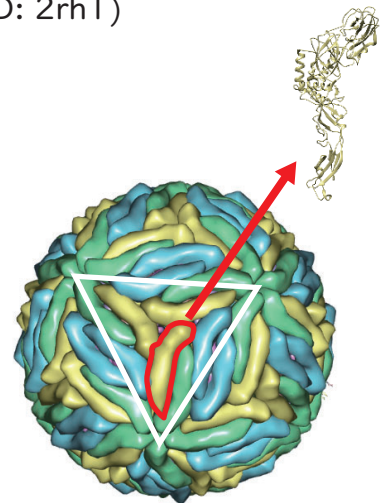
ニワトリのトリオースリン酸イソメラーゼ
(PDB ID: 1tph)

細胞を膜にうめこまれてはたらく「膜タンパク質」であり、細胞の外の様子を中に伝えるGPCRと呼ばれるタンパク質の一つです。アドレナリン分子が結合すると、活性化されます。他にも、におい、味、光を感じるGPCRがあります。GPCRは、7本の α ヘリックスが、細胞膜をつらぬいた形をしています。細胞の外から分子が結合すると、 α ヘリックスの向きが少し変わります。



ヒトの $\beta 2$ アドレナリン受容体
(PDB ID: 2rh1)

ウィルスの多くは、タンパク質のカプシド（殻）で、核酸（RNAかDNA）を包んでいます。少ない種類のタンパク質で球状の形を作る必要から、カプシドの多くは正20面体型です。ジカウィルスのカプシドでは、1種類のタンパク質が9個集まって、三角形を作っています。それが20面集まって正20面体となり、全部で180個のタンパク質でカプシドができています。



ジカウィルスのカプシド（殻）
(PDB ID: 5ire)