

タンパク質のかたちと PDB



大阪大学蛋白質研究所公式キャラクター
「たんぱくん & きみちゃん」

INSTITUTE for PROTEIN RESEARCH
大阪大学 蛋白質研究所

<http://www.protein.osaka-u.ac.jp/>
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘3-2



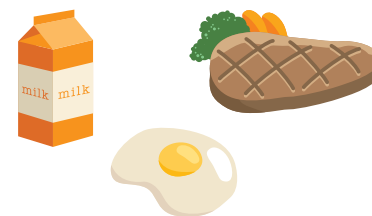
研究者向けサイト：<https://pdbj.org/>
一般向けサイト：<https://numon.pdbj.org/>



公的機関からの研究費ではまかなえない広報活動を充実・整備することを目的とした PDBj への寄付窓口を大阪大学未来基金に開設しました。寄付金は所得税や住民税の控除対象となります。詳しくはウェブサイトをご覧ください。

<https://www.miraikikin.osaka-u.ac.jp/916/>

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。

➡ 2 ページ

かたちの調べ方

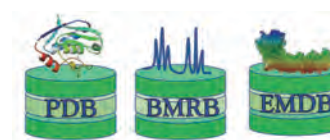
タンパク質の分子は幅が数 nm ～数十 nm (nm: ナノメートル=10 億分の 1m) 程度と非常に小さなものです。そんな小さなもののかたちを調べる方法として代表的なものが X 線結晶解析法、核磁気共鳴分光法、低温電子顕微鏡です。

➡ 4～6 ページ

かたちがわかったら

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ベース) 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 とは



PDB は 1971 年に設立された世界でただ一つのデータベースです。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、2024 年 5 月時点のデータ数は約 22 万件にもものぼっています。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ベース) 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。

➡ 7 ページ

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

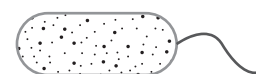
ある病気を治す薬を探す時、たくさんある化合物をやみくもに効くのかを試していくのは時間もお金もかかって非効率です。しかし分子の「かたち」(立体構造) の情報があると、薬になりそうな化合物を絞り込むことができます。インフルエンザにかかった時に処方される薬の一つタミフル(一般名: オセルタミビル) はこのような情報を利用して開発された薬の事例として知られています。

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。

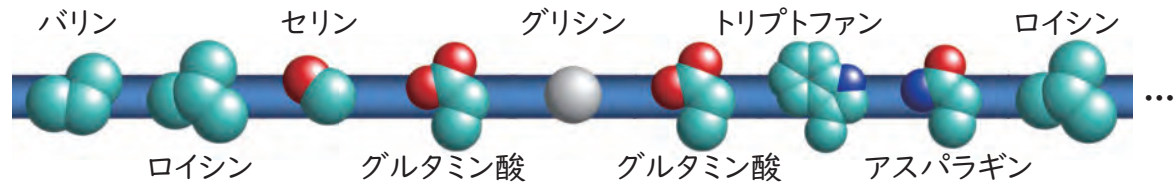
新しく構造を解析するのに役立つ

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。



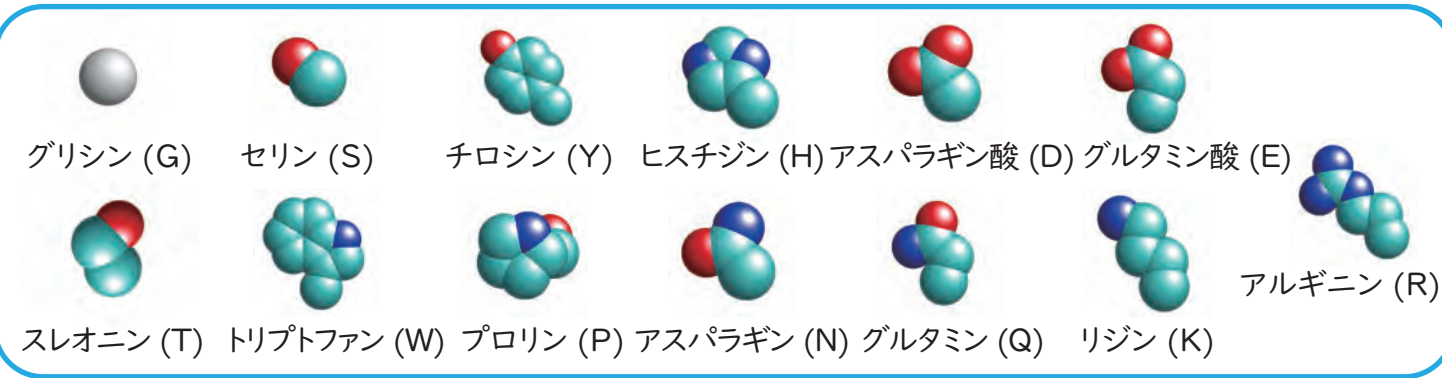
タンパク質とは

いろいろなアミノ酸がならんだひもです



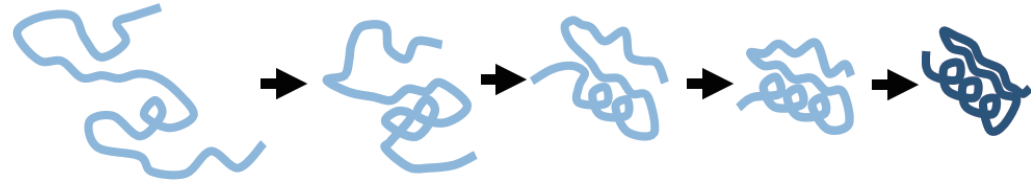
アミノ酸はぜんぶで20種類あります

← 水にとけにくい

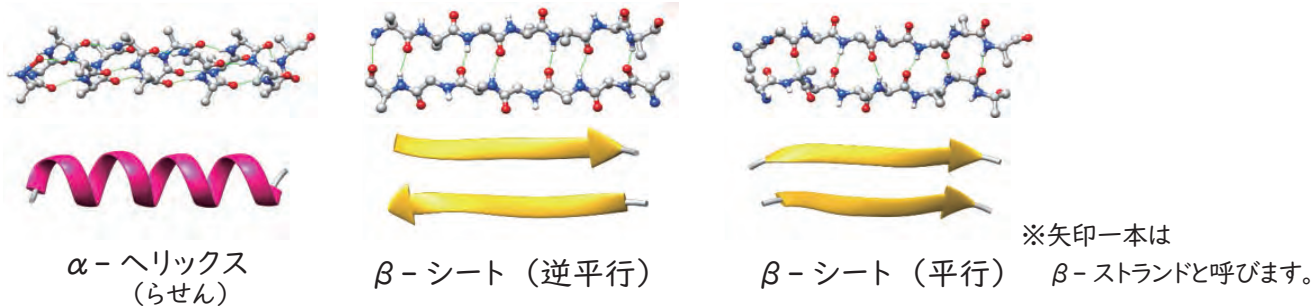


→ 水にとけやすい

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)



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)

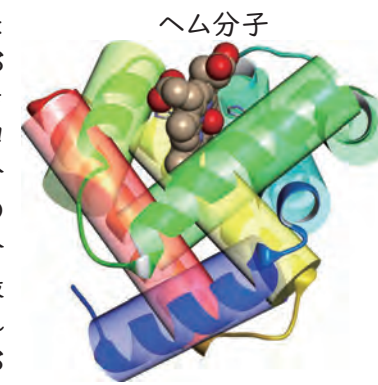


光るタンパク質 GFP (PDB ID: 1ema)



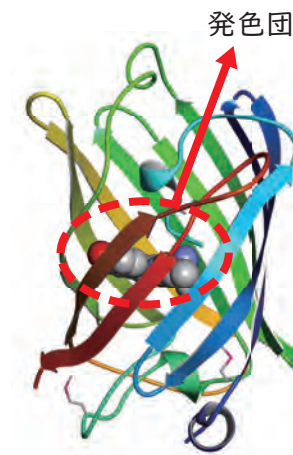
タンパク質のいろいろな形

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。



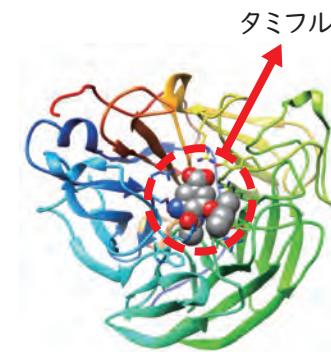
クジラのミオグロビン (PDB ID: 1mbn)

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。



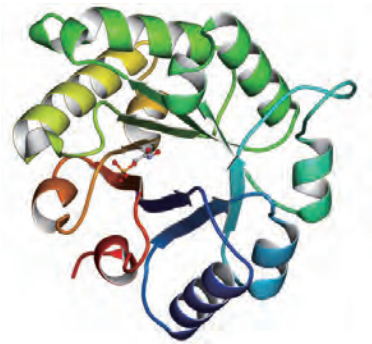
クラゲの緑色蛍光タンパク質 GFP (PDB ID: 1ema)

ヒトの細胞の中で増殖したインフルエンザウイルスが、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。



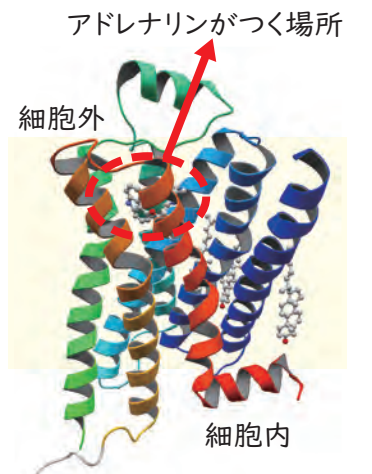
インフルエンザウイルスのノイラミニダーゼ (PDB ID: 2ht7)

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。



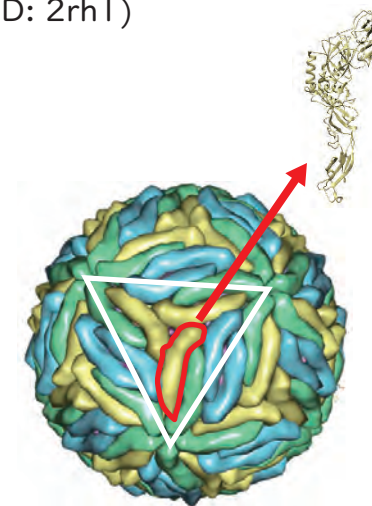
ニワトリのトリオースリン酸イソメラーゼ (PDB ID: 1tph)

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。



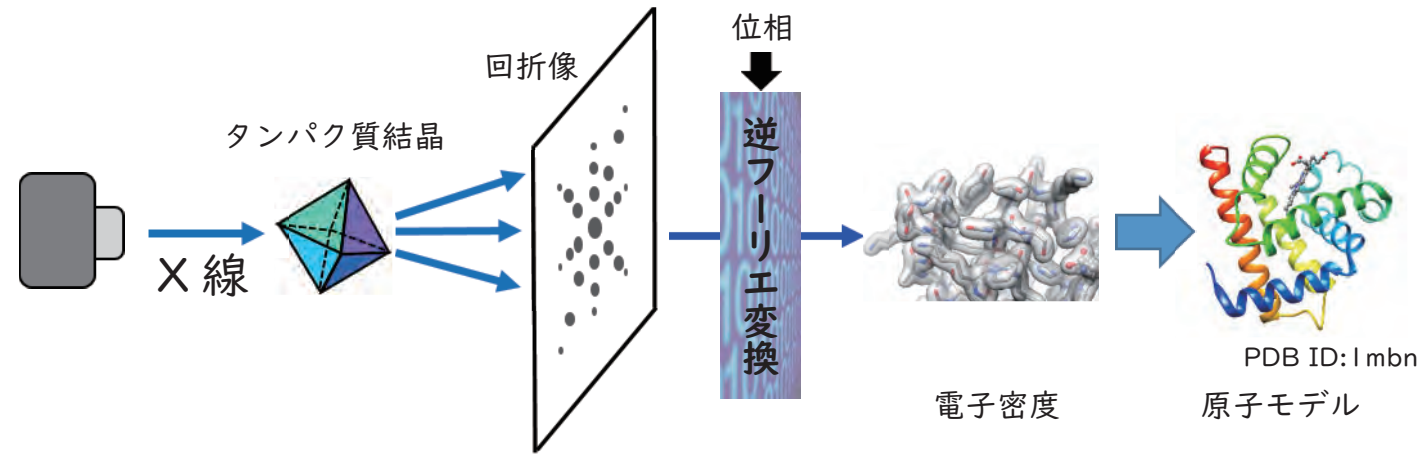
ヒトのβ2アドレナリン受容体 (PDB ID: 2rh1)

ウイルスの多くは、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。

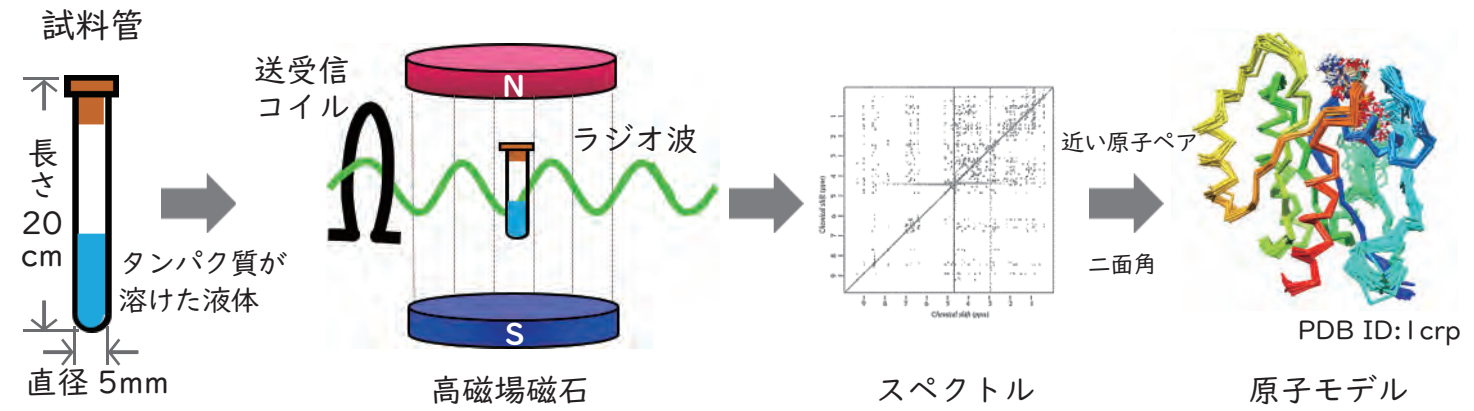


ジカウィルスのカプシド(殻) (PDB ID: 5ire)

タンパク質の形を決める方法 (1) X線結晶解析法

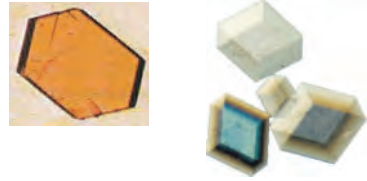


タンパク質の形を決める方法 (2) 核磁気共鳴 (NMR) 分光法



タンパク質の結晶化

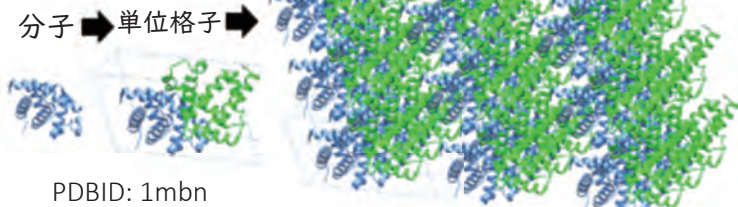
純度が高く濃いタンパク質溶液を用意し、沈殿剤を加えて、結晶を作ります。



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

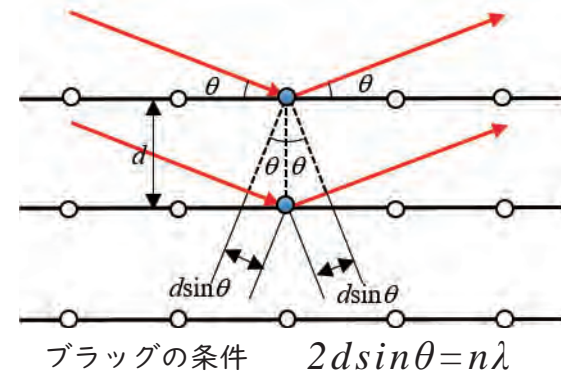
タンパク質の結晶の大きさは $0.01\text{--}1\text{mm}$ ぐらいです。

結晶



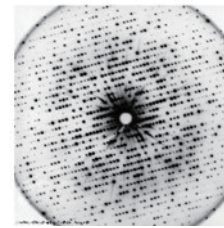
タンパク質一つの大きさは 50\AA (0.000005mm) ぐらいです。たくさんのタンパク質がきちんと並んで結晶を作ります。

結晶によるX線の回折

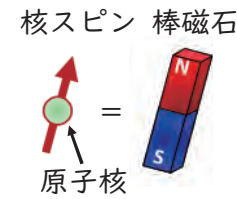


X線を結晶にあてると、分子にぶつかって向きを変え(散乱)、X線が進む距離のちがいが波長λの整数倍となるような角度(ブラッグの条件)の方向に、黒い点として観察されます(回折点)。たくさんの黒い点は、結晶の様々な面での回折に対応し、その強さには分子の形の情報が含まれています(回折強度)。これをうまく計算すると(位相を推定して逆フーリエ変換する)、分子の形(電子密度)を知ることができます。

タンパク質結晶の回折像



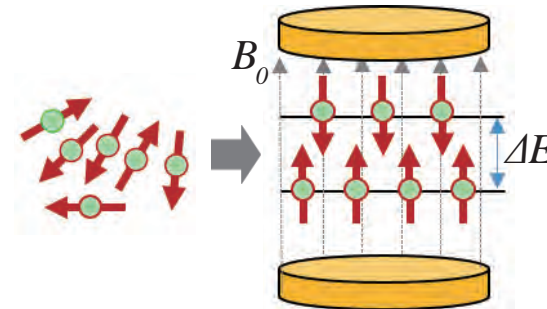
核スピンは棒磁石



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。

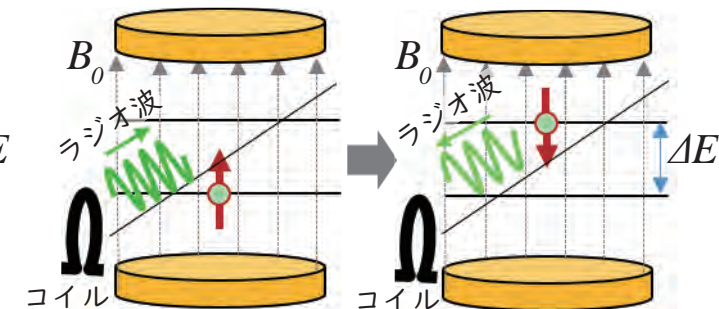
※与える電磁波の周波数は 100MHz ぐらいです。テレビ放送で使われているVHFやUHFの周波数の電磁波と近いのでラジオ波と呼びます。

強い磁場で核スピンがそろう



核スピンの向きはばらばらです。しかし、強い磁場の中に入れると、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。

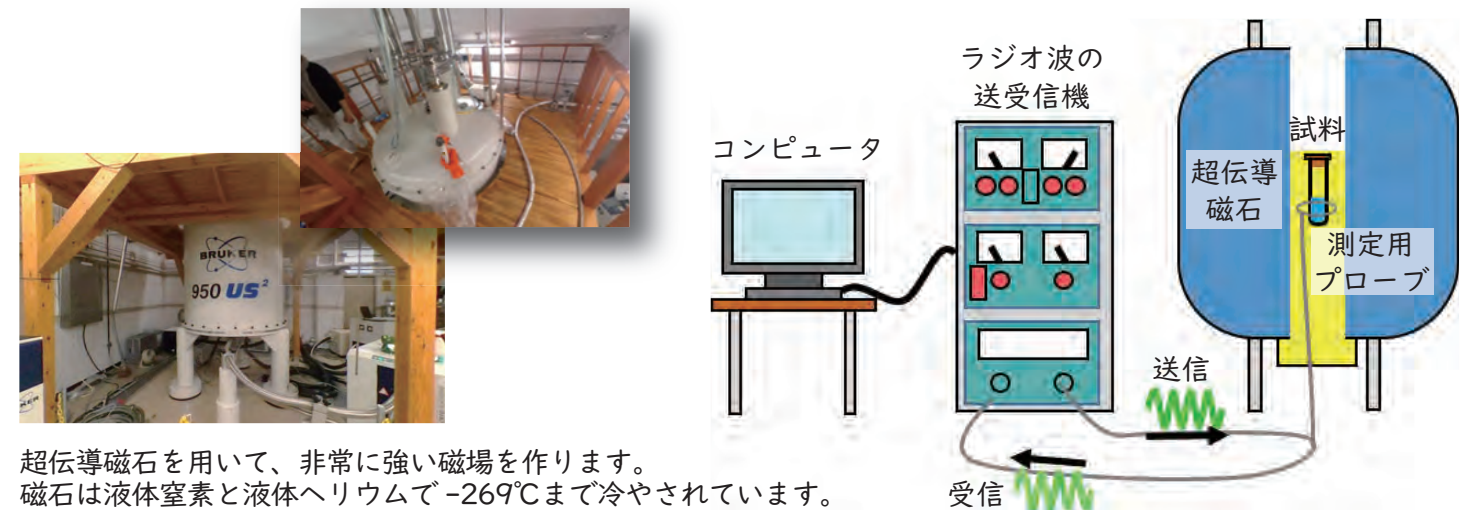
核スピンはある周波数のラジオ波に共鳴



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。

※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。磁場が非常に強いので外枠は木で作られています。

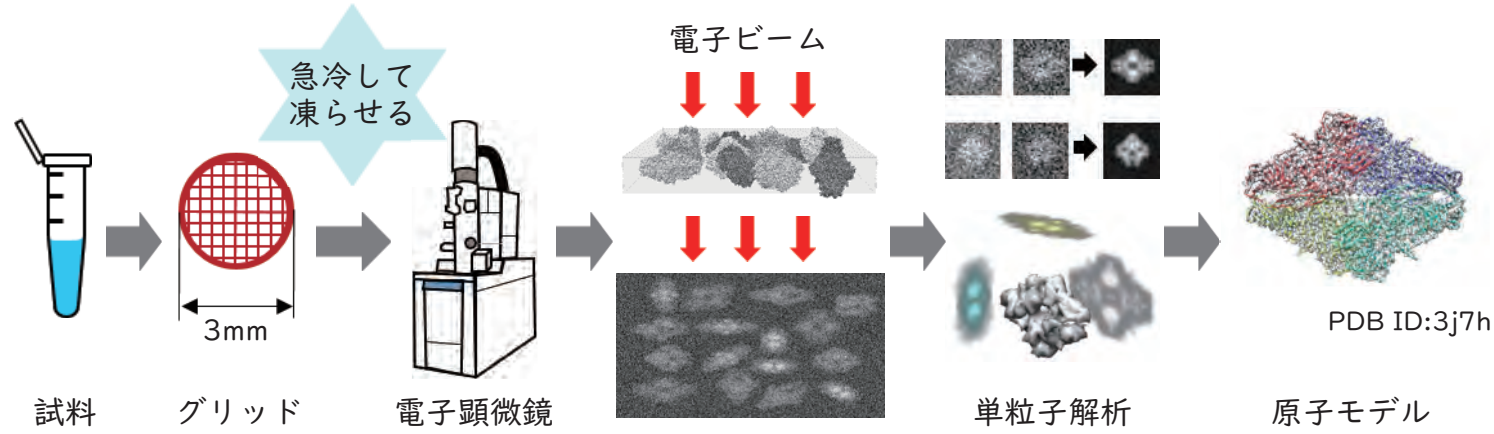
X線結晶解析の装置



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 (3) 低温電子顕微鏡法

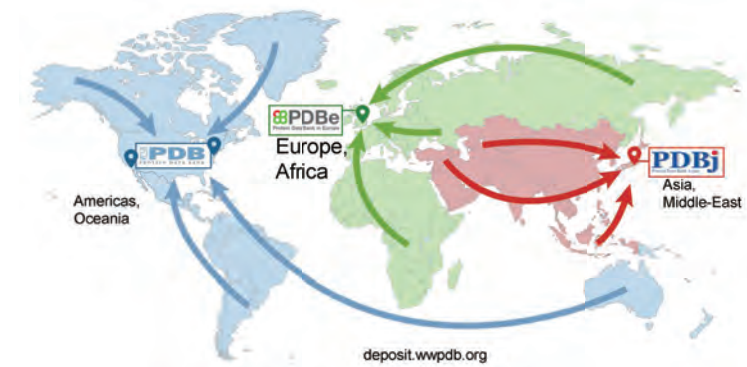


タンパク質の形が分かったら ... PDB に登録

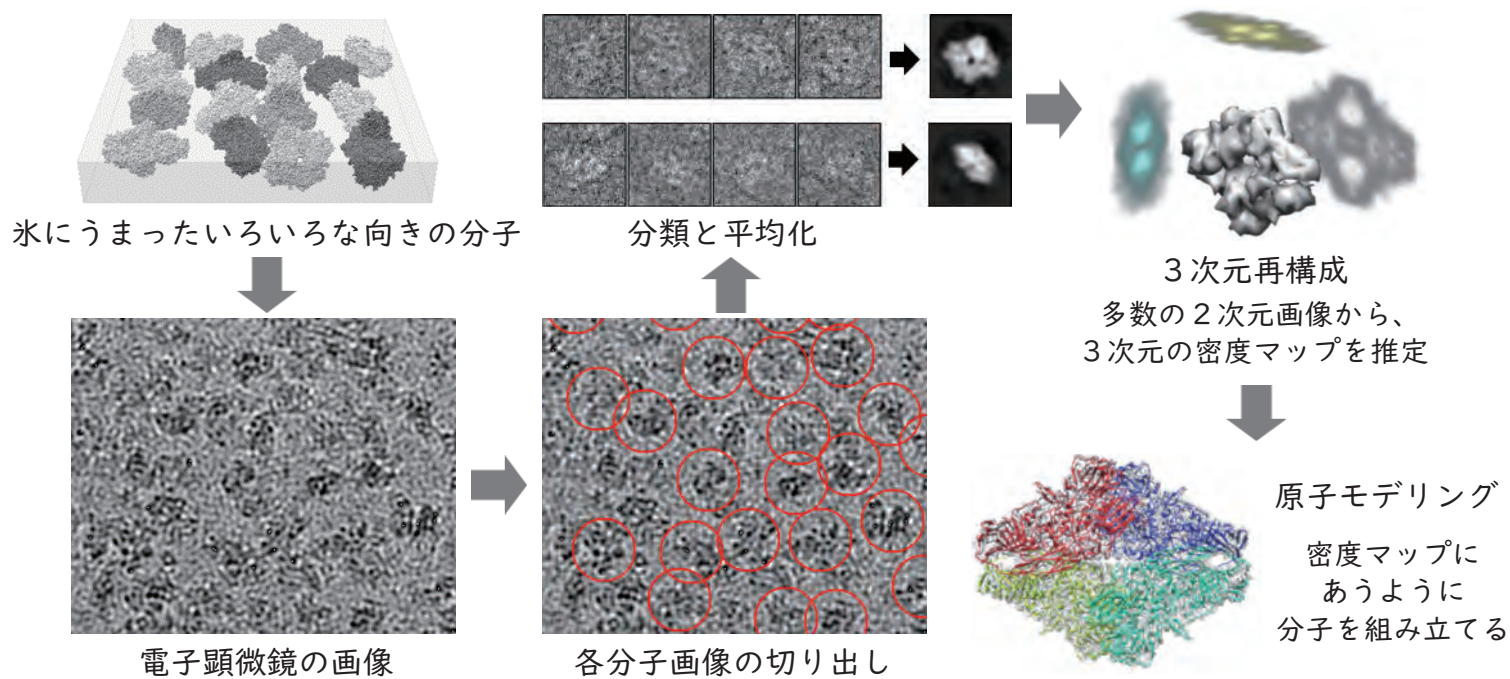
タンパク質の形がわかったら、その情報は PDB (タンパク質構造データバンク) に登録します。世界中の研究者がバラバラにデータを持っていては活用しにくいので、集めて利用しやすいようにしているのです。

タンパク質の形を発表するとき、そのデータを PDB に登録して ID をもらい、その ID を論文に書く決まりになっているので、研究者はタンパク質の形を PDB に登録するのです。

PDB は国際的なプロジェクトによって運営されていて、タンパク質の形のデータを受け付ける作業は地域ごとに分担して行っています。日本のチーム (PDBj) ではアジア地区からのデータを受け付けています。



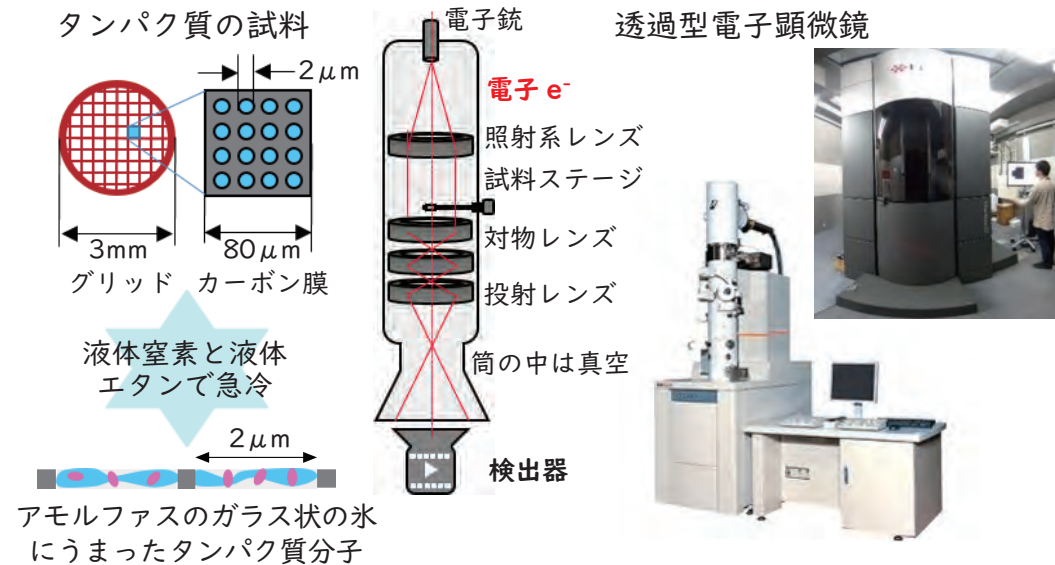
単粒子解析：たくさんの2次元の画像から3次元の形を決める方法



データの受け付けは専門のスタッフが担当し、データに問題がないかなどをチェックした上で受け入れます。それを一旦米国の RCSB PDB に集め、ここで最終的な更新内容が決められます。そして日本を含む PDB の各運営チームには事前に更新データが配布され、毎週水曜日の協定世界時の 0 時 (日本時間の朝 9 時) に全世界で同時に PDB の公開データは更新されています。毎週数百件の新しい形のデータが公開されています。

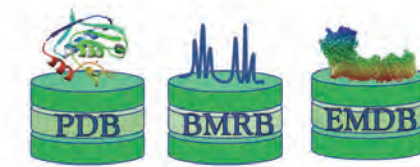
低温電子顕微鏡法の装置

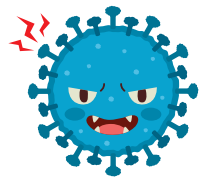
電子顕微鏡は、光ではなく、電子の波を用いた顕微鏡です。電子は、粒と波の両方の性質をもっています。真空にした筒の中で、高電圧をかけて、電子を飛ばすと、短い波長 ($0.02\text{\AA} = 2 \times 10^{-12}\text{m}$ ぐらい) の電子波を作ることができます。電子波を、試料にとおして、検出器で観察します。ガラスのレンズではなく、電磁石を用いた磁界レンズを用います。水に溶けたタンパク質を真空に置くと蒸発してしまいます。そこで、タンパク質溶液を急速凍結させた状態で観察します。



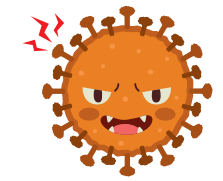
PDB のデータはパソコンなどでも読める文字データで書かれています。各原子の三次元座標 (XYZ) のほか、登録した人の名前、発表した論文、実験方法や実験に関する詳細データ、タンパク質をどの生き物から持ってきたかなどさまざまな情報が記されています。

4 ~ 6 ページで説明しているように、このデータは実験データを解析して得られます。元になった実験に関するデータの一部は別のデータベースで収集しています。NMR に関するデータは BMRB に、電子顕微鏡のマップデータは EMDB に集められていて、PDB 運営チーム (wwPDB) ではこれらのデータベースも合わせて管理しています。



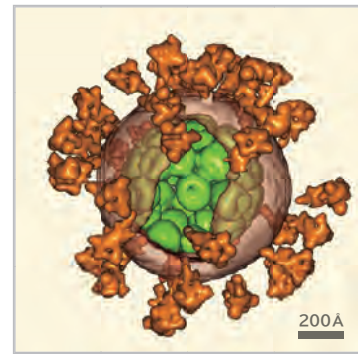


新型コロナウイルスを見てみよう！



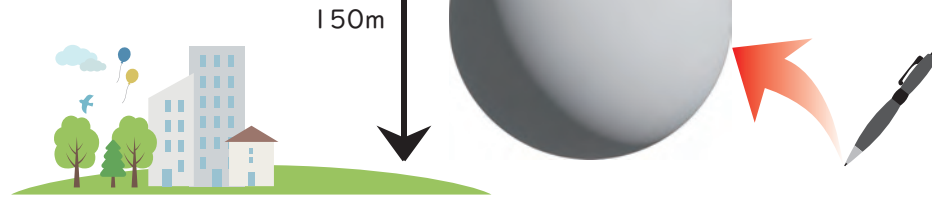
大きさ

約30万倍に拡大したウイルス



EMD-30430

30万倍ってどれくらい？
→直径0.5mmのボールペンの先にある玉が直径150mの巨大ボールになる



新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の大きさは直径1000Å（オングストローム）＝1万分の1mm程度です。たいへん小さいものであることは分かると思います。

形と構成

このウイルスは主にスパイク、エンベロープ、ヌクレオカプシドという3つの部品で構成されています。

スパイク 表面にたくさん突き出るようにくっついていて、「スパイクタンパク質」からできています。ヒトなどの細胞へ侵入するときに重要な役割をしています。

エンベロープ ウイルスの外を包み込んでいる膜です。脂質、糖、タンパク質でできています。
※ノロウイルスのようにエンベロープがなく、ヌクレオカプシドが直接外に面しているウイルスもあります。

ヌクレオカプシド RNAとタンパク質が結合してできています。ウイルスの遺伝情報はこのRNAにあります。
※コロナウイルスはRNAに遺伝情報を持っていますが、アデノウイルスなどDNAに遺伝情報を持つウイルスもあります。

コロナウイルスと戦うには

アルコール消毒・石鹸で洗う

エンベロープの主な成分である脂質はアルコールや石鹸で壊れやすく、これらを使ってウイルスを不活化することができます。



ウイルスの働きを邪魔する

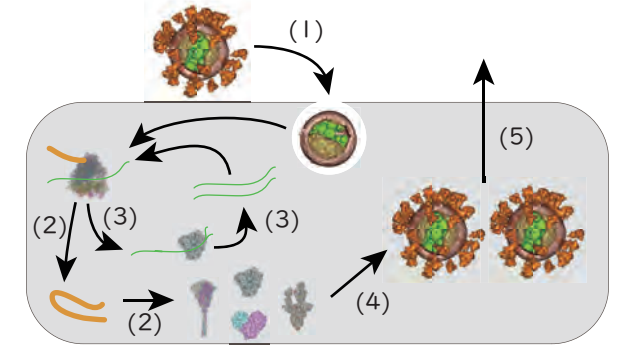
ウイルスはヒトなどの細胞に感染しないと増えることができません。その感染・増殖に関わるどこかの過程を邪魔する物質が見つけられたらウイルスの増殖を抑える薬として役立つ可能性があります。



ウイルスが増殖するしくみ

ウイルスは次のような過程を経て、増殖していきます。

- (1)ウイルスがヒトなどの細胞に侵入する
- (2)ヒトのタンパク質製造工場(リボソーム)にウイルスのタンパク質をつくらせる
- (3)ウイルスのタンパク質を使ってウイルスの遺伝物質(RNA)を増やす
- (4)できたウイルスの部品(タンパク質とRNA)からウイルス粒子が再構築される
- (5)完成したウイルスのコピーが細胞の外に放出される



PDB 7jji, 7aap, 6lu7, 4ug0, 7lrt
EMDB EMD-30430

ウイルスの活動を邪魔するには

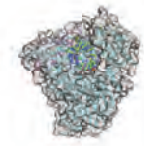
ウイルスが感染する過程において、タンパク質が重要な役割を果たしています。抗ウイルス薬となる物質には、なるべくヒトのタンパク質は邪魔することなく、ウイルスのタンパク質だけを邪魔することが求められます。攻撃目標となるウイルスタンパク質の正確な形や性質が分かると、薬となる物質を見つけるのに役立ちます。ただし、タンパク質の分子一つ一つは非常に小さいため光学顕微鏡(可視光線で見える顕微鏡)では見えません。4~6ページに示した別の方法が必要になります。

ウイルスタンパク質



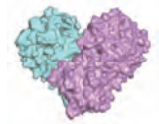
スパイクタンパク質 PDB 7jji

ロナプリーブ (カシリビマブ/イムデビマブ)



RNA依存性RNAポリメラーゼ PDB 7aap

ベクルリー (レムデシビル)



3C様プロテアーゼ PDB 6lu7

パキロビッド、ゾコーバ (ニルマトレルビル、エンシトレルビル)

薬候補

()内は一般名

ワクチンとは

ヒトの体には異物が侵入するとそれを検知して排除する「免疫」というしくみが備わっています。病気によっては、安静にしているだけでやがて治るものもありますが、それは免疫がウイルスなどの病原体を排除してくれたのかもしれませんが。

そして、この免疫が持つ働きを活性化して病気にかかりにくくするために行うのが「ワクチン接種」です。ワクチンには病原性を弱めた病原体や病原体の遺伝子の一部などが使われています。本物の病原体がやってきたときに排除できるよう、あらかじめ練習試合を行い訓練しておくようなものです。



<https://numon.pdbj.org/contents-covid19/>



ウイルスタンパク質の構造など詳しくはPDBj入門のCOVID-19情報ページで確認してみてください。

PDBj入門～生体高分子の学習ポータルサイト

PDBjのメインサイトは研究者向けなので、一般の方々が分子に親しんでいただけるように別のウェブサイトをつくりました。それが「PDBj入門」です。

VR分子ビューア



スマホとVRゴーグルを使って分子を立体的に見ることができます

よろづみプライム



赤青メガネを使って分子を立体的に見ることができます

11ページの画像も赤青めがねで見ると立体的に見えます



COVID-19情報



新型コロナウイルスの分子的な解説サイト

ペーパーモデル



紙で分子をつくってみよう

※台紙のデータは無料配布しています



8、9ページも見てね

ゲーム



神経衰弱とスネークゲームを通して分子を知ろう

今月の分子

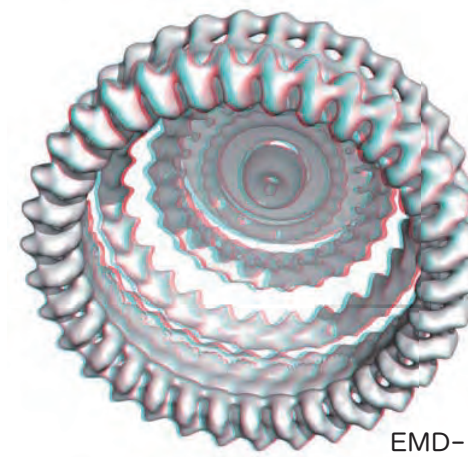


分子構造の解説記事

詳しくはPDBj入門にアクセスしてみてください。
<https://numon.pdbj.org/>

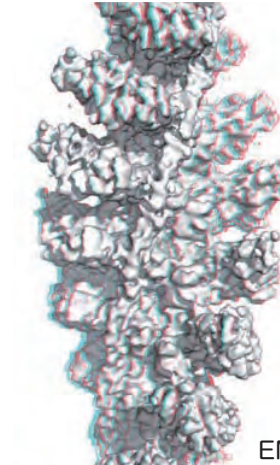


いろんなタンパク質を見てみよう！



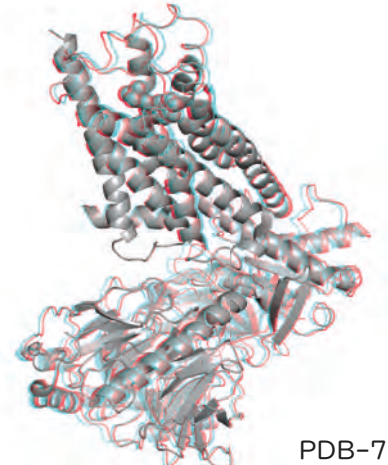
EMD-1887

スクリューを回す
細菌べん毛モーター



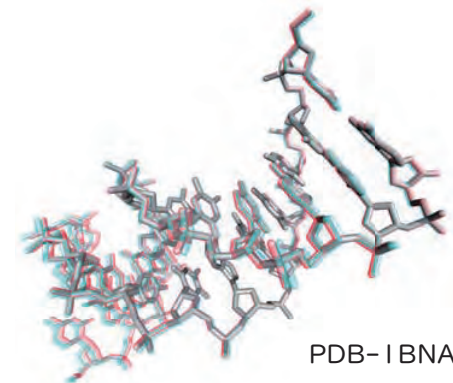
EMD-1989

筋肉の
タンパク質



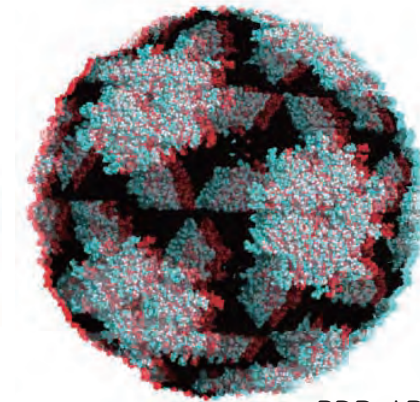
PDB-7DHI

信号を受け取る
アドレナリン受容体



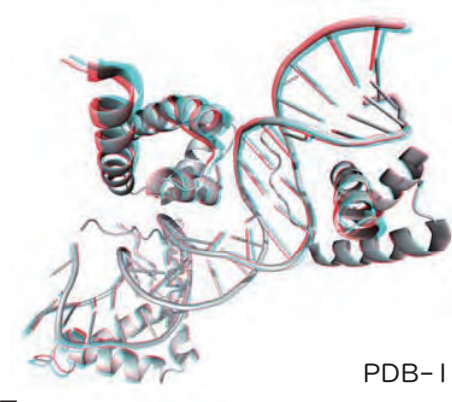
PDB-1BNA

生き物の設計図
DNA



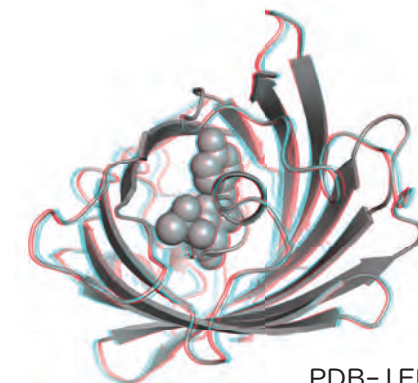
PDB-1BBT

口蹄疫(こうていえき)
ウイルスの殻



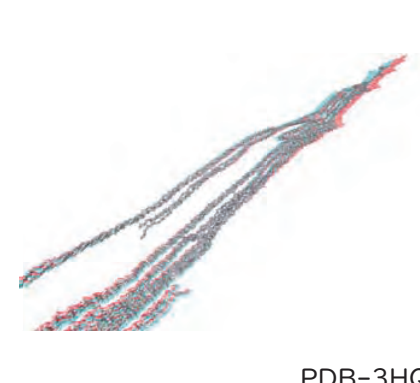
PDB-1GTO

細胞をリセットする
初期化因子



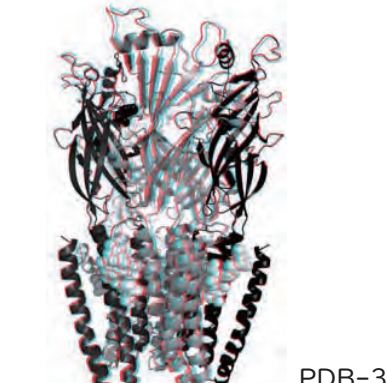
PDB-1EMA

光るタンパク質
GFP



PDB-3HQV

身体をかたちづくる
コラーゲン



PDB-3RIF

イベルメクチンが
作用するチャンネル