

## 今回の講義

- 講義 1：蛋白質の構造
- 講義 2：蛋白質の機能構造研究
- 講義 3：膜蛋白質の構造研究
- 講義 4：抗体を用いた膜蛋白質の結晶化
- 講義 5：創薬ターゲット膜蛋白質の構造解析とその迅速化

## 講義 1：蛋白質の構造

分子細胞情報学：岩田 想

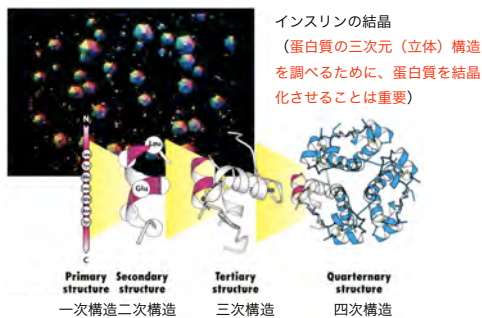
## 講義の狙い

- 蛋白質分子の形を一次、二次、三次及び四次構造のレベルに分けて理解する。

## 学習項目

- アミノ酸
- 一次構造
- 二次構造
- 三次構造
- 四次構造
- 蛋白質の修飾/切断

## 蛋白質の構造

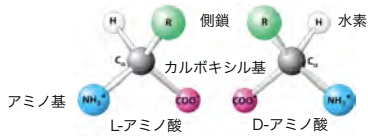


蛋白質はアミノ酸を単位として構成される直鎖状ポリマーでアミノ酸配列が多様な機能を具現する三次元構造を決定する。

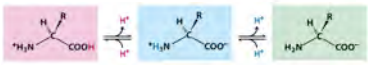
## 1.アミノ酸

- 蛋白質はL-アミノ酸でできている。
- 蛋白質は20種類のアミノ酸から構成される

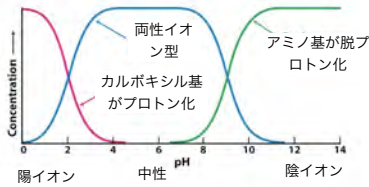
## 蛋白質はL-アミノ酸から出来ている



側鎖は20種類の異なったタイプがある。



アミノ酸は両性イオン。pHによって異なった電荷を有する(側鎖も別の電荷を有する場合があります)。



## 側鎖のない、または小さなアミノ酸



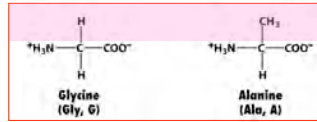
### グリシン

- 側鎖は水素だけ
- 自由な構造をとれる(決まった二次構造をとりにくい)

### アラニン

- 小さな疎水基(メチル基)を持つ
- いろいろな二次構造に対応できる

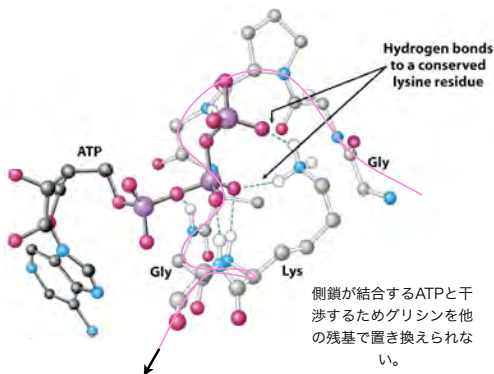
側鎖  
主鎖



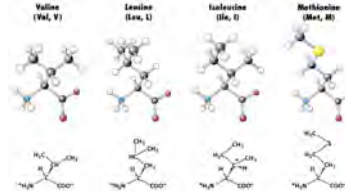
## 例：ATP結合モチーフ

### Pループ (GxxxxGKT/S)

P  
O  
N  
C  
H



## 脂肪族側鎖をもつアミノ酸



### バリン

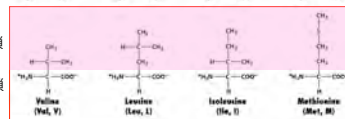
### ロイシン

### イソロイシン

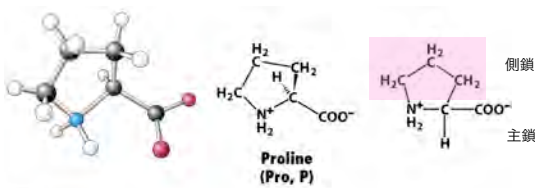
### メチオニン

- 9種の必須アミノ酸に含まれる
- 蛋白質の疎水性コア(後述)の形成に重要

側鎖  
主鎖



## 脂肪族側鎖をもつ"イ"ミノ酸



プロリンは側鎖がアミノ基と結合して環状になっているイミノ酸。環状構造のためとれる立体配置座に大きな制限がある(後述)。自由度の少ない構造がコラーゲンなどの安定に必須である。

## 例：皮膚のコラーゲン



三重らせん構造をとっている。

## 芳香族側鎖をもつアミノ酸



フェニルアラニン  
チロシン  
トリプトファン

- フェニルアラニンとトリプトファンは必須アミノ酸
- 蛋白質の疎水性コア（後述）の形成に重要
- トリプトファンは近紫外（280nm）に吸収をもつ。
- チロシンとトリプトファンは解離性（後述）

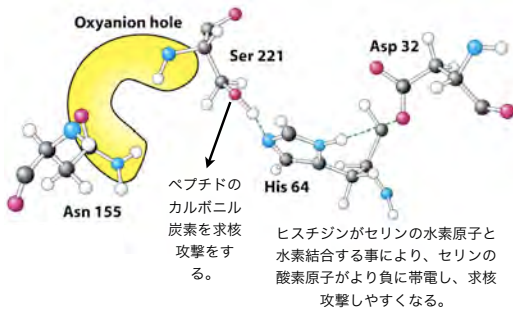
## 脂肪族ヒドロキシ（ル）基を持つアミノ酸



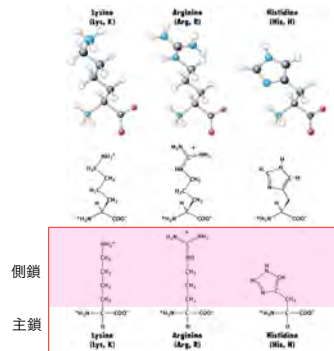
セリン  
スレオニン  
（トレオニン）

- スレオニンは必須アミノ酸
- 親水性である
- ヒドロキシ（ル）基は反応性が高く、リン酸化、及び糖鎖修飾をうけることがある（後述）。情報伝達に重要。セリンプロテアーゼの触媒中心でもある。

## 例：セリンプロテアーゼの活性中心



## 塩基性アミノ酸

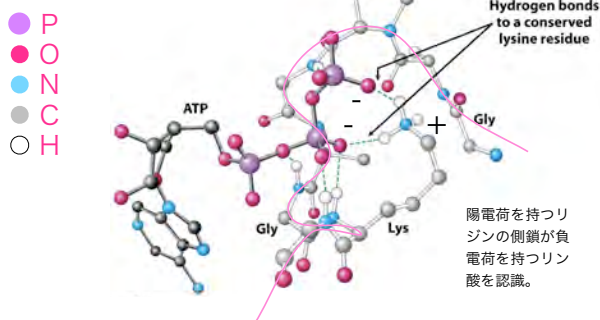


リジン  
アルギニン  
ヒスチジン

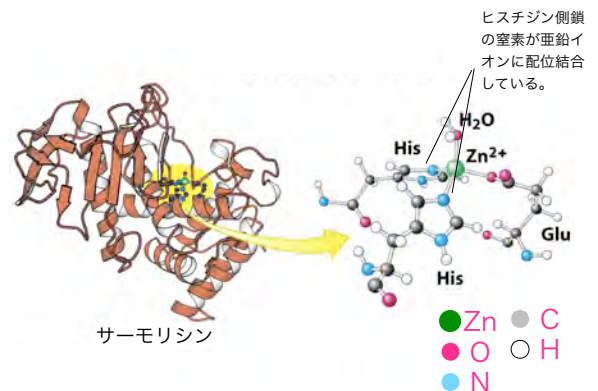
- リジン、ヒスチジンは必須アミノ酸
- リジン、アルギニンは中性で正電荷をもつ。
- ヒスチジンは中性でプロトンと解離、結合し、しばしば酵素の活性部位に見いだされる。
- ヒスチジン（しばしば複数）は金属の配位に用いられる。

## 例：ATP結合モチーフ

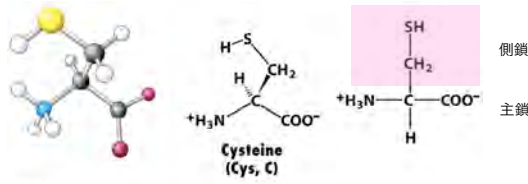
### Pループ (GxxxxGKT/S)



## 例：金属プロテアーゼ



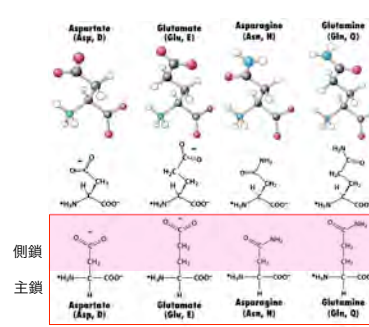
## チオール（スルフィドリル）基を持つアミノ酸



### システイン

- チオール基は反応性が高い。金属の結合部位や酵素の活性中心に存在する
- 二つのシステイン間でジスルフィド結合を形成し蛋白質を安定化させる

## 酸性アミノ酸と酸アミド



### アスパラギン酸

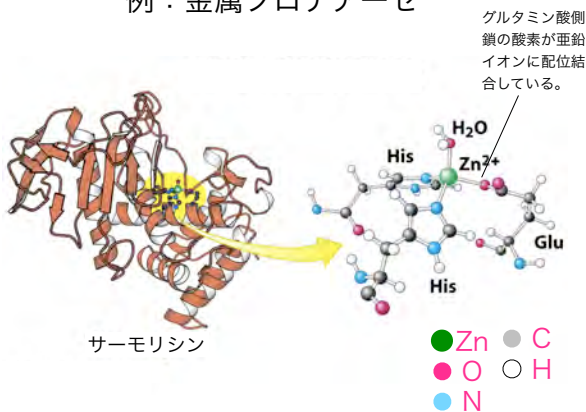
### グルタミン酸

### アスパラギン

### グルタミン

- アスパラギン酸、グルタミン酸は中性で負に帯電している
- アスパラギン酸、グルタミン酸は金属に配位できる。
- アスパラギン酸、グルタミン酸はプロトンを受容することができ酵素の活性部位に見受けられる。
- アスパラギンの側鎖は糖の修飾をうけることがある。

## 例：金属プロテアーゼ



グルタミン酸側鎖の酸素が亜鉛イオンに配位結合している。

サーモリシン

## アミノ酸の一文字表記

Amino acid	Three-letter abbreviation	One-letter abbreviation	Amino acid	Three-letter abbreviation	One-letter abbreviation
Alanine	Ala	A	Methionine	Met	M
Arginine	Arg	R	Phenylalanine	Phe	F
Asparagine	Asn	N	Proline	Pro	P
Aspartic acid	Asp	D	Serine	Ser	S
Cysteine	Cys	C	Threonine	Thr	T
Glutamine	Gln	Q	Tryptophan	Trp	W
Glutamic acid	Glu	E	Tyrosine	Tyr	Y
Glycine	Gly	G	Valine	Val	V
Histidine	His	H	Asparagine or aspartic acid	Asx	B
Isoleucine	Ile	I	Glutamine or glutamic acid	Glx	Z
Leucine	Leu	L			
Lysine	Lys	K			

R : aRginine, N: asparagiNe, D: aspaëDic acid: Q: Qtamine (cute amine), E: GlutamatE, K: (K is before L), F: Fenyllalanine, W: W-rings, Y:Yrosine

## 解離性のアミノ酸残基

蛋白質内の解離基の典型的なpKa.

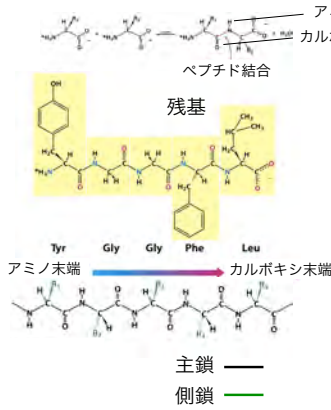
Group	Acid	Base	Typical pKa
C末端カルボキシル基			3.5
グルタミン酸			4.1
アスパラギン酸			4.1
ヒスチジン			6.0
N末端アミノ基			8.0
システイン			8.5
チロシン			10.0
リジン			10.8
アルギニン			12.5

- イオン結合に関与できる
- プロトンの供与、受容をすることができる（特に中性にpKaのあるもの）
- 酸塩基触媒として働く（同上）

## 2. 一次構造

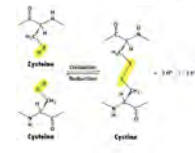
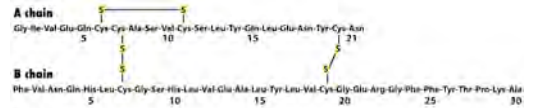
- アミノ酸はペプチド結合でつながってポリペプチド鎖を形成する。
- ポリペプチド鎖中のアミノ酸の配列を一次構造と呼ぶ。

## ペプチド結合とポリペプチド



-アミノ酸は脱水重合してペプチド鎖を形成する。  
 - 残基：ペプチド中のアミノ酸単位  
 -ペプチド鎖には極性があり、それぞれの端をアミノ末端（N末）及びカルボキシ末端（C末）と呼ぶ  
 - ポリペプチド鎖にはアミノ酸の種類に関わらず一定の主鎖と特有の側鎖といわれる部分からなっている。

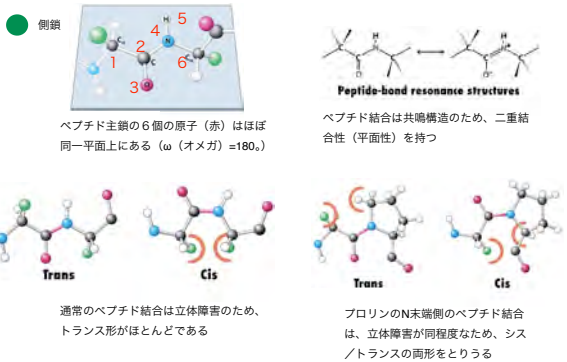
## 蛋白質の一次構造



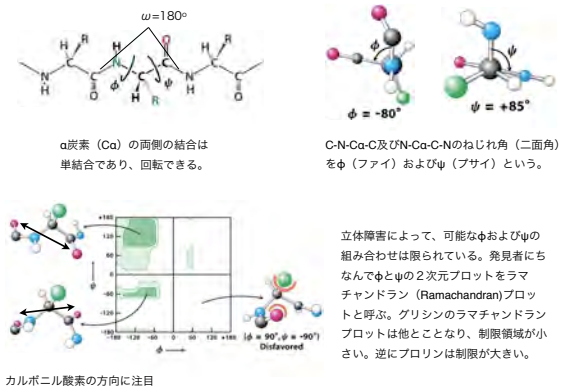
システイン シスチン  
 蛋白質はペプチド結合以外にもジスルフィド結合（側鎖間の結合）を含んでいる

-1953年にFred Sangerがインスリンの一次構造を蛋白質として初めて決定し、蛋白質が決まったアミノ酸配列を持っていることを示した。  
 -アミノ酸配列は遺伝子によって決定されている。このため最近ではアミノ酸配列は遺伝子の配列から決定することが多い。

## ペプチド結合の平面性



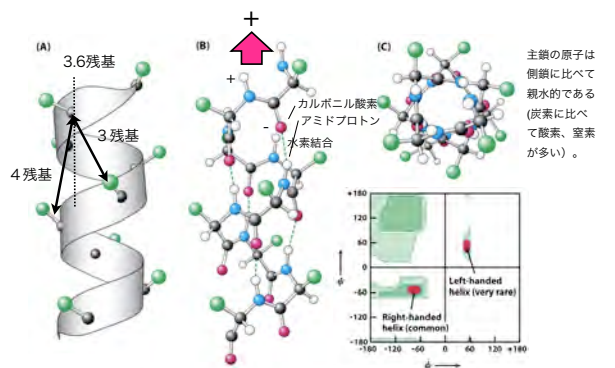
## ペプチド主鎖の結合の回転



## 3.二次構造

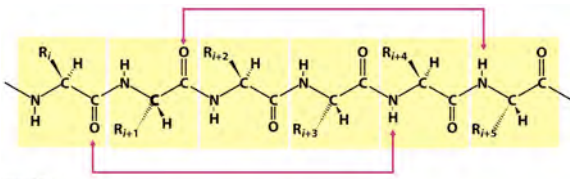
- ポリペプチド鎖は、主鎖二面角 ( $\phi, \psi$ ) の制限により、 $\alpha$ ヘリックス、 $\beta$ シートの構造（二次構造）を取りやすい。
- ポリペプチドが曲がる部分では、ターン及びループの様なその他の二次構造を取る場合がある。

## $\alpha$ ヘリックス (1)



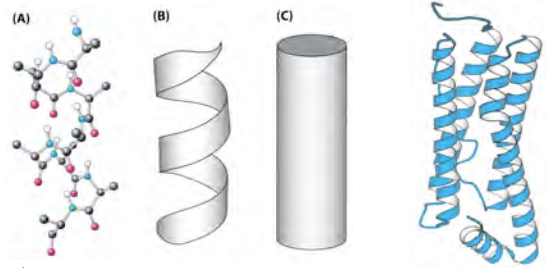
右巻き、3.6 残基で一回転。ダイポール（双極子）モーメントがある。  
 カルボニル酸素が4残基先のアミドプロトンと水素結合を作っている。

## αヘリックス (2)



一連のアミノ酸配列から来ており、カルボニル酸素が4残基先のアミドのプロトンと水素結合を作っている。

## αヘリックス (3)



ボールアンドスティック

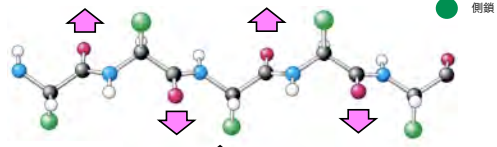
リボン

シリンダー

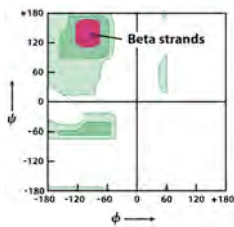
アルファヘリックスを多く含む蛋白質の例：鉄貯蔵蛋白フェリチン

アルファヘリックスの各種の表し方

## βストランド

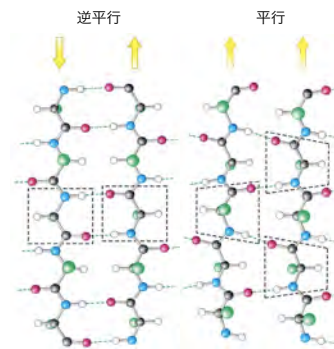


↑ カルボニル酸素の向きをαヘリックスと比較



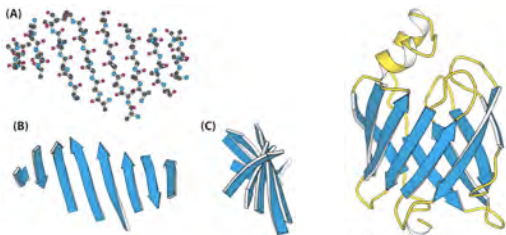
βシート (後述) を作るもとの構造。αヘリックスと違い、ストランド中には水素結合はなく、伸びた形をしている。

## βシート (1)



βストランドが並んで、その間に水素結合を作ることによって形成される。平行と逆平行のβシートがある。シートを形成するストランドはアミノ酸配列上連続している必要はない。

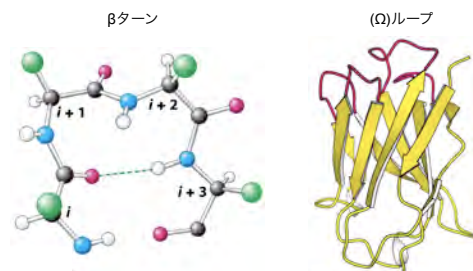
## βシート (2)



実際のβシートは多く4-10本程度のストランドで出来ており、しばしばねじれたり、バレルを形成したりしている

βシート (バレル) を実際に含む蛋白質の例：脂肪酸結合蛋白質

## その他の二次構造の例



βシートが急に反転する部分などで見られる (Pループなど)

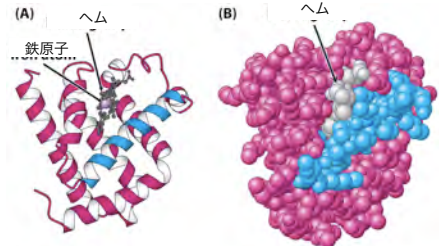
βシートやαヘリックスなどの二次構造をつなぐフレキシブルな構造

## 4.三次構造

- 二次構造が非極性残基を内側に持ってくる（疎水性コア）形でたたみ込まれる。
- 三次構造中にも、モチーフやドメインと言われる副構造が存在する。

## ミオグロビンの三次構造（1）

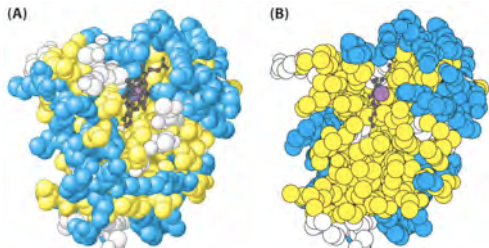
ミオグロビン：筋肉における酸素運搬蛋白質。補欠分子ヘムに酸素を結合する。



リボンモデル： $\alpha$ ヘリックスがヘムの周りにパッキングしている。

スペースフィリング（空間充填）モデル：実際の原子のサイズ（ファンデルワールス半径）を反映したモデル。蛋白質内部は原子が密に詰まっている

## ミオグロビンの三次構造（2）



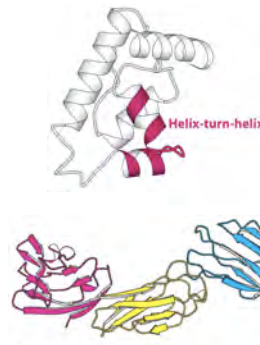
スペースフィリングモデル

スペースフィリングモデルの断面

（疎水性残基を黄色、親水性残基を青で表してある）

疎水性残基を内側に、親水性残基外側に向けて、折り畳まれて（フォールディング）いることが分かる。黄色の部分に疎水性コアという。

## 三次構造中の副構造



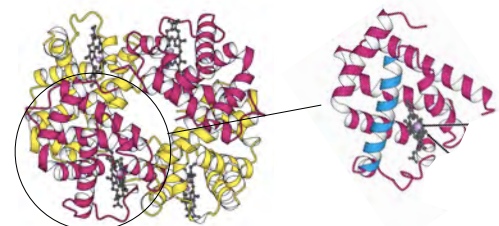
モチーフ：局所的な二次構造の集まりで、多くの蛋白質に共通してみられる。先祖蛋白質が共通である進化的要因と安定性の両方の要因が考えられる。

ドメイン：一本のポリペプチドが複数の折りたたみを含んでいる時、それぞれをドメインという。進化の過程で遺伝子重複や異なった蛋白質の融合でできたと考えられる。

## 5.四次構造

- 複数のポリペプチド鎖（サブユニット）が会合して、多サブユニット構造を形成することができる。
- 四次構造はしばしばサブユニット間の相互作用により、蛋白質を制御することに重要な役割を果たす。

## ヘモグロビンの四次構造（1）



ヘモグロビン  
( $\alpha_2\beta_2$ 四量体)

ミオグロビン  
(単量体)

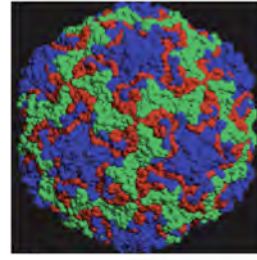
ミオグロビンは一定の強さでしか酸素を結合できないが、ヘモグロビンは酸素の濃度、環境によって酸素の結合能が変化する。これは血液による酸素の運搬に重要な機能である。

## ヘモグロビンの四次構造 (2)



ヘモグロビンの四量体の一つのサブユニットに、酸素が結合すると他のサブユニットに酸素が結合しやすくなる。これは四量体中のサブユニット間の相互作用によって起こり、「協同現象」と呼ばれる。単量体であるミオグロビンでは協同現象は起こらない。

## ウイルスの外殻蛋白質

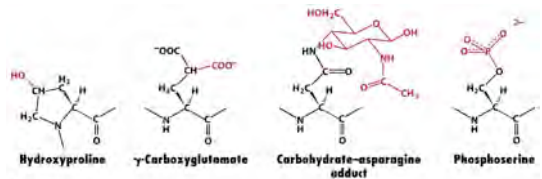


多くの蛋白質からなる集合体。ライノウイルスの場合は4種類の異なったサブユニットがそれぞれ60個ずつ集まって四次構造を形成している。

## 6. 蛋白質の修飾/切断

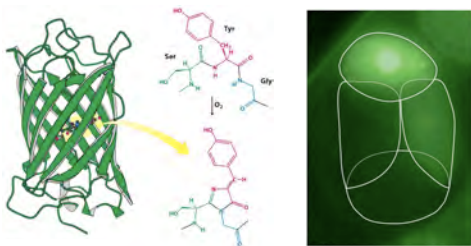
- 蛋白質を構成する20種類のアミノ酸は蛋白質が合成された後、修飾されて新しい機能を獲得することがある(ジスルフィド結合、修飾アミノ酸など)。
- 蛋白質によっては前駆体蛋白質として合成され、その一部分が切断されて活性化を受けるものがある(例:トリプシンなどの消化酵素)。

## 修飾アミノ酸の例



ヒドロキシ プロリン： コラーゲンの 安定化に 重要	4カルボキ シグルタミ ン酸：血液 凝固系の蛋 白質に見ら れる	アスパラギ ンの糖鎖修 飾：細胞表 面の蛋白質 に多く存在 する	セリン、スレオ ニン及びチロシ ンのリン酸化： 細胞内シグナル 伝達で可逆的 スイッチの役割を 果たす。
--	---	---	--

## 特殊な修飾アミノ酸の例



クラゲ由来の緑色蛍光蛋白質 (GFP) : Ser-Tyr-Glyの配列が自発的に構造を変え、酸化されることにより蛍光を発する原子団を形成する。多くの蛋白質の標識に用いられている。