

細胞の構造生物学 - 1

名大創薬科学研究科・名大CeSPI 藤吉好則

<http://www.cespi.nagoya-u.ac.jp>

授業の目的

ヒトを分子レベルから理解することができる、本当に「分かった」と思えるので楽しい、創薬などの応用的な観点からも興味深い。このような学問分野を言い表すために、「構造生理学」という言葉を使っている。分子レベルからヒトを理解するためにも細胞について基礎的な知識を学ばなければならない。そして、細胞を分子レベルから理解しようとする「細胞の分子生物学」を学ばなければならない。

それゆえ、いわゆるセントラルドグマ(central dogma)を構造生物学的に見直すことによって、構造生物学の“神髄”を理解することを目指す

DNA ⇒ RNA ⇒ タンパク質 ⇒ 活性調節

複製

転写

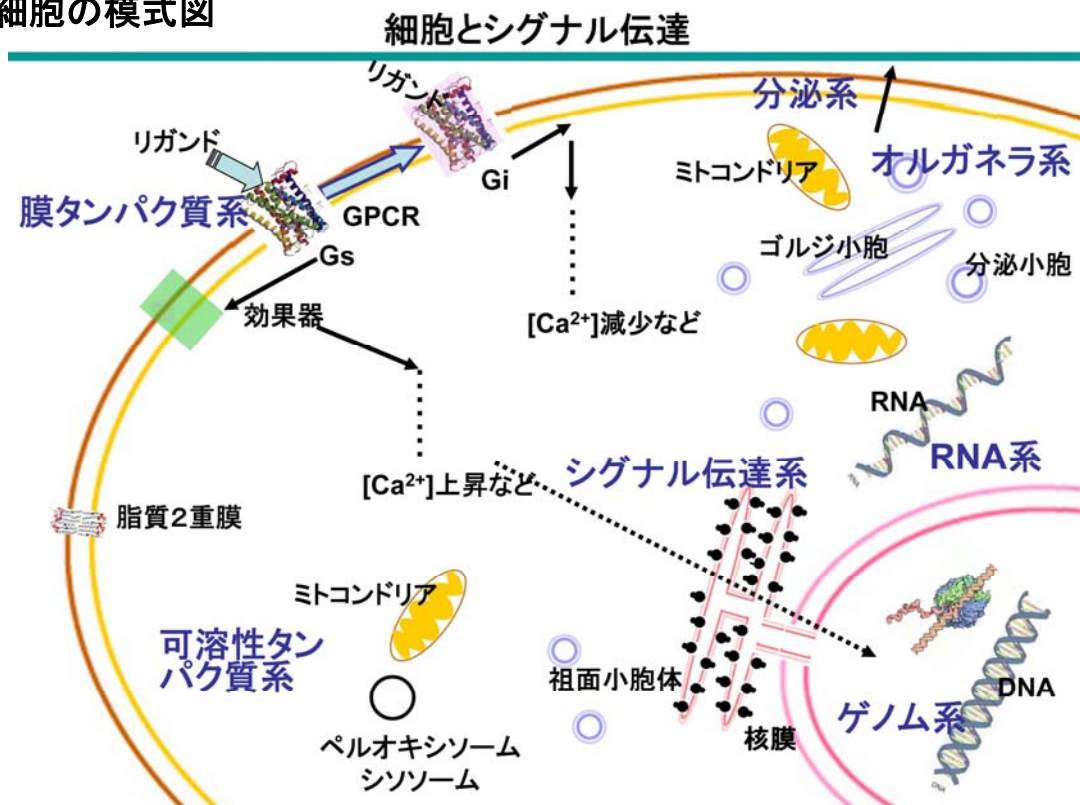
翻訳

翻訳後修飾

授業の内容

セントラルドグマ関わる生体高分子を中心に最新の構造生物学的知見を解説する

細胞の模式図



タンパク質(ペプチド)

アミノ酸やペプチドの図

アミノ酸の構造式

出来る限り、20種類のアミノ酸の名前と構造を書けるように練習してください

アミノ酸のHydropathy scale

110

J. KYTE AND R. F. DOOLITTLE

J. Bol. Biol. 157, 105
(1982). J. Kyte & R.F.
Doolittle.

TABLE 2

Hydropathy scale and information used in the assignments

Side-chain	Hydropathy index	$\Delta G_{transfer}^{\circ}$ (water-vapor) ^a	Fraction of side-chains 100% buried ^b	Fraction of side-chains 95% buried ^c
Isoleucine	4.5	4.4	4.5	5.2
Valine	4.2	4.2	4.3	4.2
Leucine	3.8	4.5	3.2	2.8
Phenylalanine	2.8	2.5	2.5	3.5
Cysteine/cystine	2.5	1.9	6.0	3.2
Methionine	1.9	1.9	1.0	1.9
Alanine	1.8	3.9	5.3	1.6
Glycine	-0.4	—	4.2	1.3
Threonine	-0.7	-0.6	-0.5	-1.0
Tryptophan	-0.9	-0.9	-2.4	-0.3
Serine	-0.8	-0.8	-0.7	-1.0
Tyrosine	-1.3	-1.1	-3.3	-2.2
Proline	-1.6	—	-2.4	-1.8
Histidine	-3.2	-4.2	-3.6	-1.9
Glutamic acid	-3.5	-3.9	-2.8	-1.7
Glutamine	-3.5	-3.5	-4.0	-3.6
Aspartic acid	-3.5	-4.5	-2.5	-2.3
Asparagine	-3.5	-3.8	-3.1	-2.7
Lysine	-3.9	-3.2	—	-4.2
Arginine	-4.5	—	—	—

All values in the last 3 columns result from arbitrary normalization to spread them between -4.5 and +4.5. The normalization functions were:

^a $-0.679(\Delta G_{transfer}^{\circ}; \text{Table 1}) + 2.32$.

^b $48.1(\text{fraction } 100\% \text{ buried; Chothia, 1976}) - 4.50$.

^c $16.45(\text{fraction } 95\% \text{ buried; Chothia, 1976}) - 4.71$.

good correlation

J Kyte and RF Doolittle, J. Bol. Biol. 157, 105 (1982).

タンパク質の折り畳みに関わる弱い結合の図

Christian B Anfinsen(1972年にノーベル化学賞)の実験

Peptide結合の特徴=2重結合性
これにより2面角が定義できる

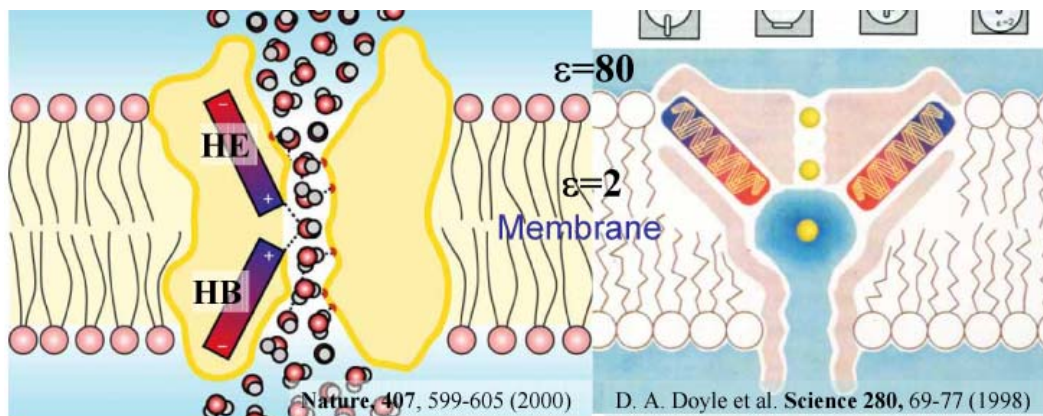
2面角の定義

Ramachandran Plot

タンパク質構造の次数
1次構造、2次構造、3次構造、4次構造

タンパク質構造の2次構造

α -helixと β -sheet



脂質膜の比誘電率
helixが作る静電場

helixが作る静電場で

水分子が配向

Helical wheel

Helix間の相互作用

Helical bundle

EF hand

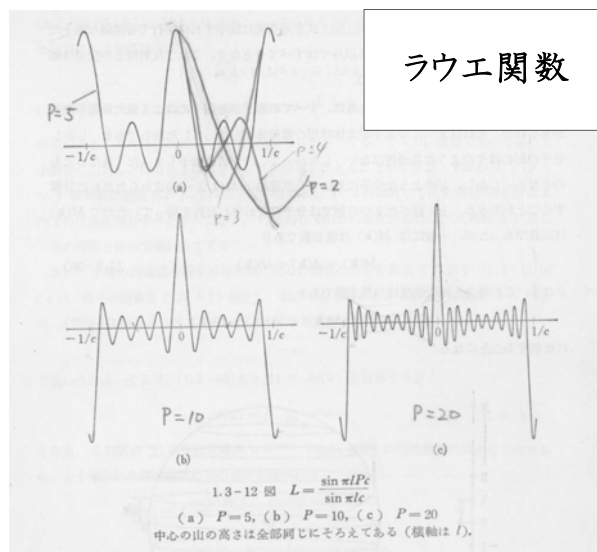
X線結晶学とNMR 結晶学の例

$$|F(hkl)|^2 = I(hkl) \quad (1)$$

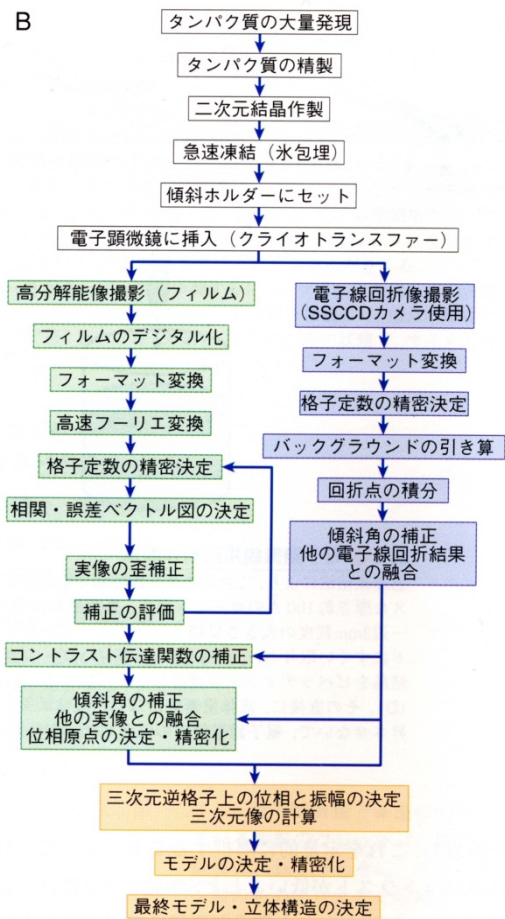
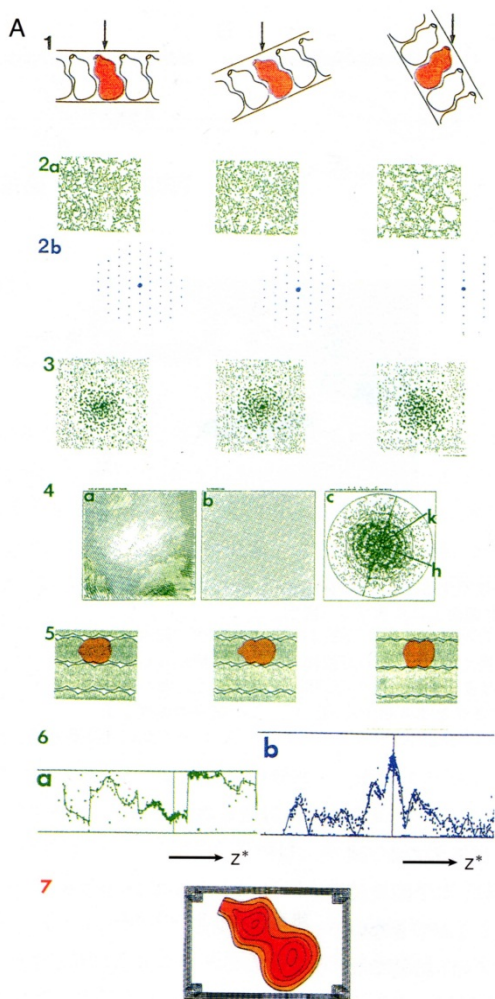
$$F(hkl) = \sum_{n=1}^N f_n e^{2\pi i(hx_n + ky_n + lz_n)} \quad (2)$$

$$\rho(x, y, z) = \frac{1}{V} \sum_h \sum_k \sum_l F(hkl) e^{-2\pi i(hx + ky + lz)} \quad (3)$$

ラウエ関数



電子線結晶学



結晶学データ(の表)の見方の代表例

ARTICLES

TABLE 1 Experimental data on crystal structure determination and refinement

	Quality of MIR phases								Total
	12.6	8.4	6.3	5.0	4.2	3.6	3.2	2.8	
Resolution limit (Å)	12.6	8.4	6.3	5.0	4.2	3.6	3.2	2.8	Total
CH ₃ -Hg(OOC.CH ₃) ₂									
Number of reflections	280	760	1,478	2,404	3,571	4,893	3,869	—	17,255
Phasing power	2.53	2.29	2.49	2.05	1.33	1.19	1.37	—	1.49
SmCl ₂									
Number of reflections	242	758	1,477	2,405	3,573	4,946	6,612	8,264	28,277
Phasing power	2.05	1.04	1.03	0.78	0.47	0.36	0.33	0.31	0.49
Mean figure of merit	0.76	0.79	0.74	0.67	0.55	0.45	0.33	0.19	0.41
Native data and refinement									
Resolution limit (Å)	5.41	3.76	3.17	2.84	2.61	2.44	2.31	2.20	Total
Number of reflections	3,977	7,834	7,853	7,803	7,655	7,507	6,101	4,559	53,289
Predicted	4,019	7,839	7,863	7,835	7,820	7,801	7,763	7,792	58,732
R _{sym}	0.026	0.029	0.037	0.049	0.067	0.094	0.108	0.135	0.039
R-factor (all data)	0.173	0.121	0.157	0.205	0.246	0.277	0.304	0.330	0.190
R-factor (>2.0σ)	0.172	0.121	0.155	0.197	0.231	0.248	0.255	0.268	0.178
Free R-factor (all data)									0.304
Free R-factor (>2.0σ)									0.287

ARTICLES

TABLE 1 Structure determination and refinement

	Rotation search			Refined PC(Ω)					
	Θ ₁	Euler angles Θ ₂	Θ ₃	Highest peak	Highest false peak				
Search structure									
GTPase domain	60.9	65.2	42.1	6.4σ	3.8σ				
Helical domain	59.4	62.9	47.8	6.9σ	5.1σ				
Both domains	60.0	65.8	43.2	6.8σ	2.3σ				
Translation search									
	Fractional Coordinates			Refined PC(Ω)					
	x	y	z	Highest peak	Highest false peak				
Space group									
I222	0.43	0.40	0.34	23σ	15σ				
I2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	0.43	0.14	0.37	16σ	16σ				
G ₁₀ -GDP refinement									
Resolution limit (Å)	3.51	2.83	2.48	2.26	2.10	1.98	1.88	1.80	Total
Number of reflections	5,382	5,285	5,208	5,216	5,164	5,123	5,124	4,569	41,071
% Complete	100	100	100	99.9	99.7	99.1	98.8	88.9	98.3
<I/σ>	31.4	26.6	19.7	14.7	10.7	7.60	4.85	3.42	19.0
R _{sym}	0.086	0.102	0.125	0.163	0.201	0.272	0.403	0.542	0.124
R-factor (all data)	0.198	0.178	0.198	0.207	0.217	0.234	0.283	0.331	0.211
R-factor (date>2.0σ)	0.194	0.169	0.184	0.185	0.188	0.192	0.204	0.218	0.187
Free R-factor (all data)	0.231	0.203	0.219	0.222	0.236	0.267	0.320	0.350	0.236
Free R-factor (data>2.0σ)	0.226	0.195	0.199	0.207	0.209	0.214	0.229	0.226	0.211
r.m.s. deviations	Bond lengths 0.010		Bond angles 1.46						
G ₁₀ -GTP-γS refinement									
Resolution limit (Å)	3.51	2.83	2.48	2.26	2.10	1.98	1.88	1.80	Total
Number of reflections	13,384	13,193	12,874	12,407	12,093	11,768	11,506	11,367	98,592
% Complete	98.9	98.3	96.2	92.7	90.5	88.1	86.2	85.1	92.0
<I/σ>	27.2	25.6	18.9	14.1	10.9	7.97	5.24	3.38	20.4
R _{sym}	0.064	0.067	0.082	0.104	0.132	0.172	0.243	0.337	0.077
R-factor (all data)	0.175	0.189	0.226	0.253	0.273	0.315	0.382	0.469	0.229
R-factor (date>2.0σ)	0.175	0.187	0.218	0.239	0.25	0.271	0.290	0.301	0.211
Free R-factor (all data)	0.239	0.243	0.273	0.290	0.295	0.329	0.402	0.518	0.276
Free R-factor (data>2.0σ)	0.239	0.241	0.266	0.276	0.278	0.289	0.299	0.319	0.258
r.m.s. deviations	Bond lengths 0.008 Å		Bond angles 1.31°						