

タンパクを知っていますか(2)

2010年10月29日(於 国立遺伝学研究所)

共催 静岡県ニュートンプロジェクト
ターゲットタンパク研究プログラム
国立遺伝学研究所



タンパクを知っていますか？

タンパクの形と働き

構造遺伝学研究センター 伊藤啓

タンパク質とは？



「タンパク質？ もちろん知ってますよ、お肉でしょ?!」



タンパク質とは？

- 栄養？
- **Yes !** 生きていくために、必要な栄養です。小腸から吸収されて、私たちの体の中で生命活動の源となります。
- 毎日きちんと食事を摂りましょう！

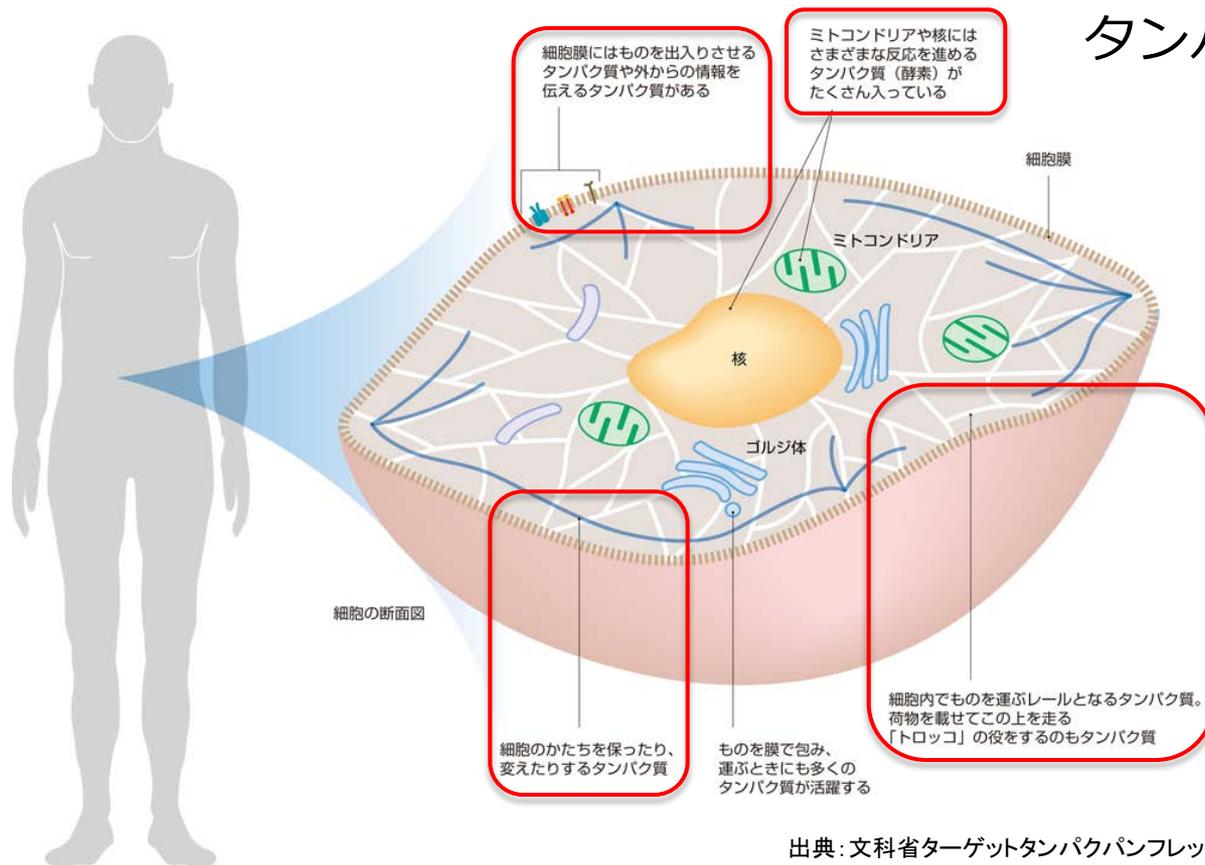


タンパク質とは？

- 栄養？
- **Yes !** 生きていくために、必要な栄養です。小腸から吸収されて、私たちの体の中で生命活動の源となります。
- 毎日きちんと食事を摂りましょう！
- 髪の毛や筋肉？
- **Yes !** 生物の体を作ったり、動かしたりします。



生命を支えるタンパク質



タンパク質は細胞の主要
構成成分

(ヒトの場合18%)

(水が70%、あと残りは脂肪
や核酸などです)

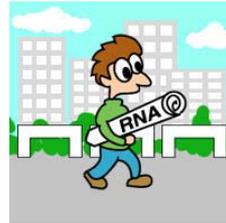
ミクロの世界に目を
向けると、もっ
と様々で大切な働
きをしています



タンパク質は遺伝子の情報を基に作られる



転写



翻訳



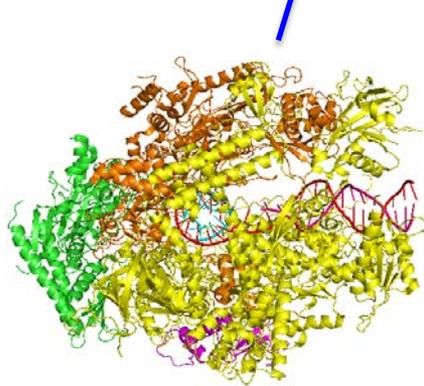
出典: 国立遺伝学研究所電子博物館

DNA → RNA → タンパク質

(設計図の保管庫)

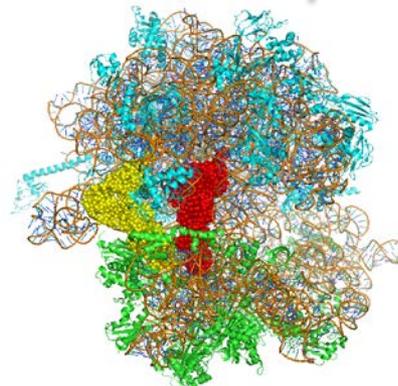
(設計図のコピー)

(機能部品)



RNAポリメラーゼ

(PDB: 2o5i, 3d5aより作図)



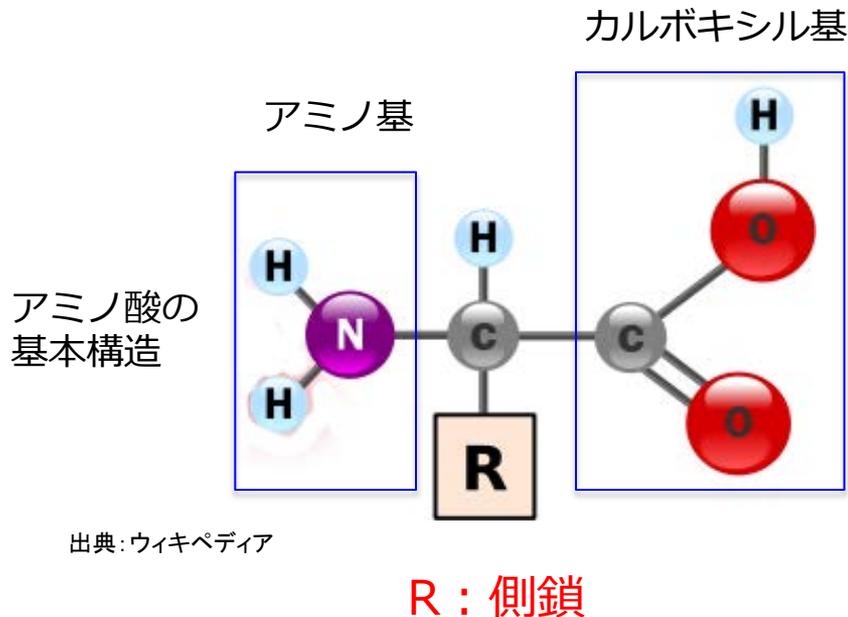
リボソーム

様々な生命現象を進めたり、調節をしたりするのは遺伝子ではなく、タンパク質



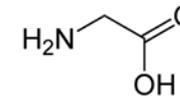
タンパク質の最小構成成分はアミノ酸

アミノ酸で出来ています

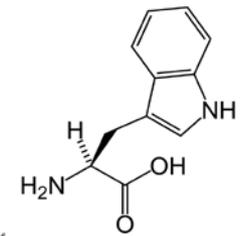


アミノ酸は側鎖の違いによって20種類!

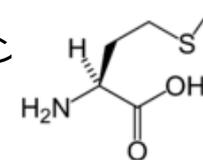
小さいグリシン



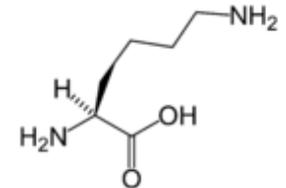
大きく平たいトリプトファン



硫黄を含むメチオニン



ひよろ長いリジン



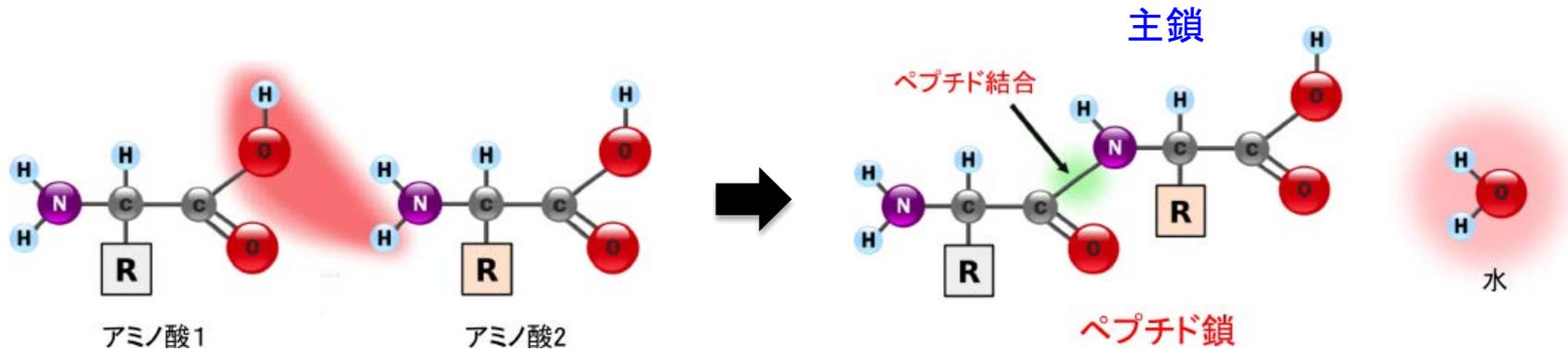
・・・などなど

20種類の側鎖は、それぞれ形や大きさ、化学的性質が違います



タンパク質はペプチド鎖で出来ている

- アミノ酸がペプチド結合により結合した紐状分子、ポリ（多）ペプチドで出来ています



出典：ウィキペディア

- ポリペプチドの長さ、含まれるアミノ酸の種類や並び方は遺伝子によって決められており様々
- ヒトでは2, 3万種類？

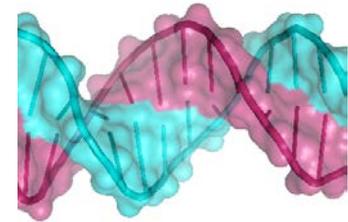


ヒモはヒモでも、ただのヒモじゃないタンパク質

2. 複雑な立体構造を形成すること

DNA鎖（2重らせん構造）

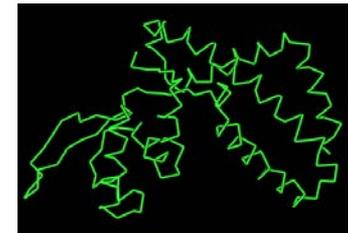
→ 安定だけど自由度に欠ける



(PDB: 2yvhhより作図)

ポリペプチド（1本鎖）

→ 多様な立体構造をもつ



(PDB: 1ulyより作図)

遺伝情報（文字列という1次元情報）

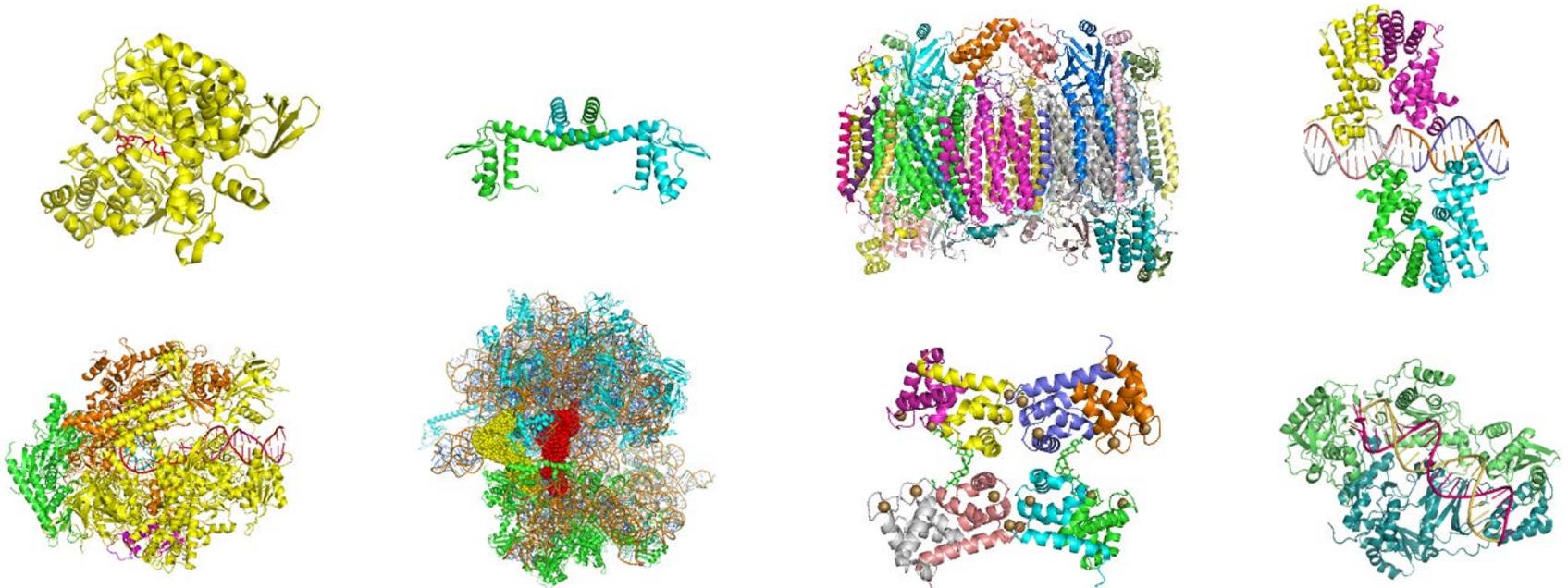
→ 生物（3次元の存在）

タンパク質のおかげ！



秘訣はその立体構造にあり

- 様々な立体構造を形成できる
→ それぞれの形に適した、多様な働きを持てる



タンパク質の形と機能の間には密接な関係

(PDB: 1jyw, 2du9, 3ag1, 2yvh,
2o5i, 3d5a, 1irj, 3kleより作図)



タンパク質の立体構造

- タンパク質の立体構造は、タンパク質が作られる順序に合わせて4段階に分けて考えます

1次構造

低次構造

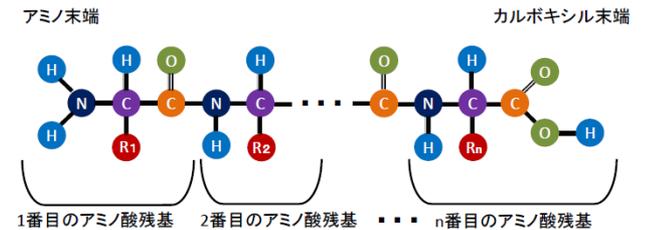
2次構造

3次構造

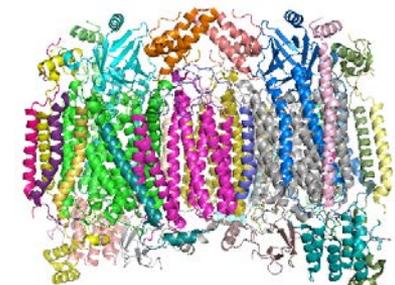
4次構造



高次構造



ポリペプチド

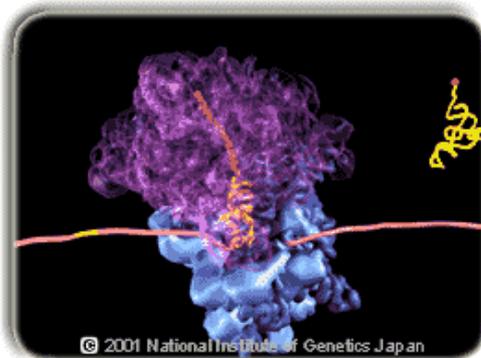


(PDB: 3ag1)

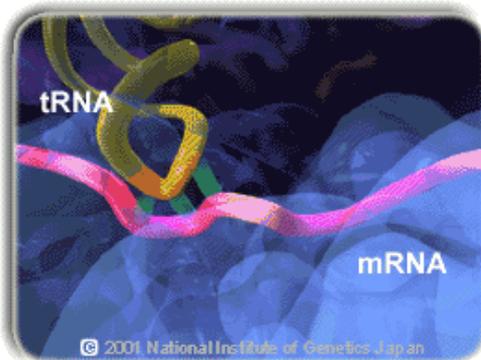


タンパク質の立体構造

- **1次構造**： ポリペプチド鎖上でのアミノ酸の並び順



リボソームにおいて、遺伝情報に従ってポリペプチドが合成される（翻訳）



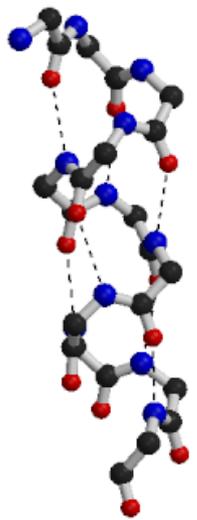
3つの塩基が1つのアミノ酸を指定する（遺伝暗号）

1次構造は、遺伝情報から一義的に決まる

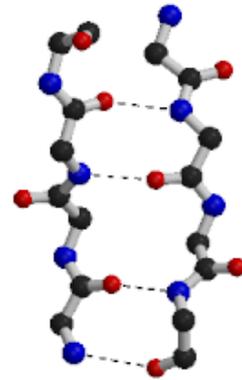


タンパク質の立体構造

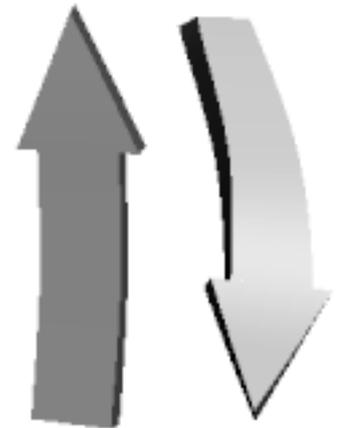
- **2次構造**：ポリペプチド主鎖同士の水素結合によって局所的に形成される規則的な構造。αヘリックス、βシート構造など



αヘリックス



βシート

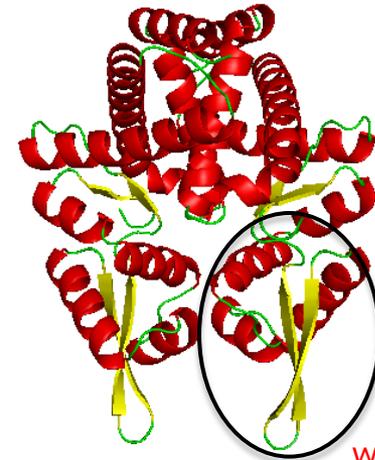
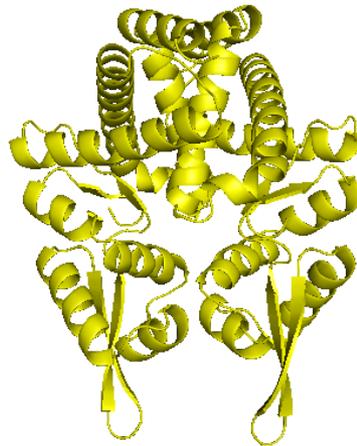
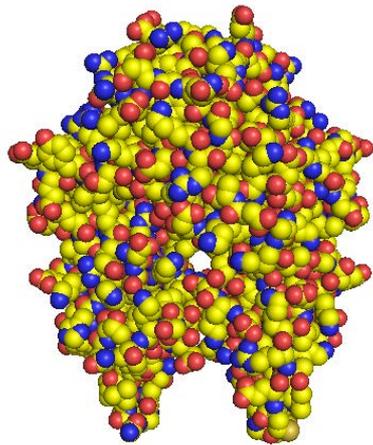


(PDB: 1ulyより作図)



タンパク質の立体構造

そのままでは複雑で理解しづらいタンパク質の立体構造も、



winged-HTH
モチーフ

2次構造に着目し・・・

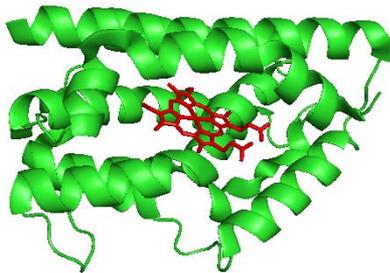
模式的に表すと解りやすい！

モチーフ（超2次構造）は、共通の祖先から進化、あるいは同じ機能を持つタンパク質同士で共通して見つかります



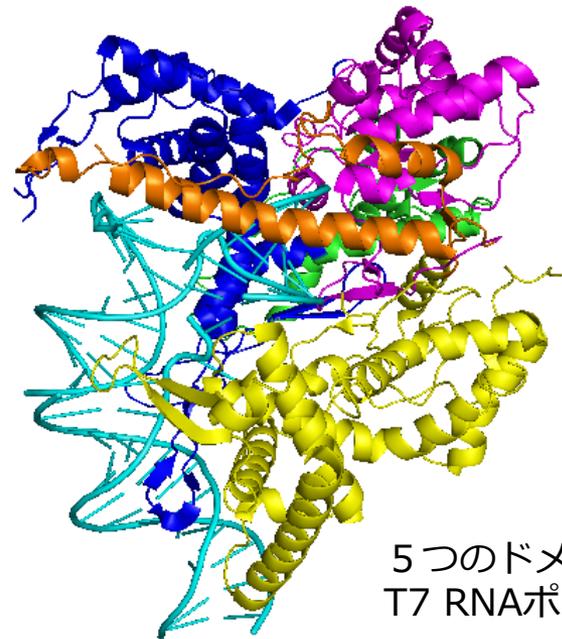
タンパク質の立体構造

- **3次構造**： いくつかのモチーフから出来上がるひとまとまりの構造。ドメインと呼ばれる。



1つのドメインから構成される
ヘムオキシゲナーゼ

(PDB: 1n45より作図)



5つのドメインから構成される
T7 RNAポリメラーゼ

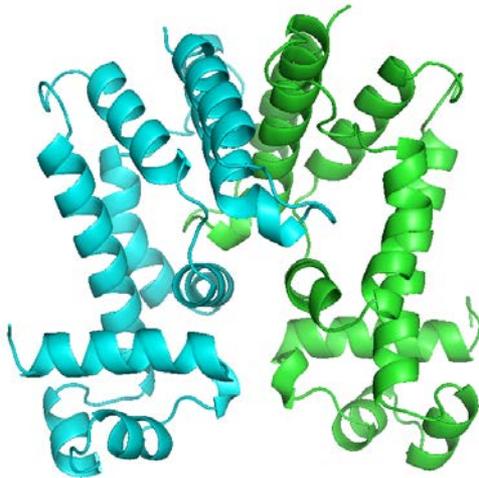
(PDB: 3e3jより作図)



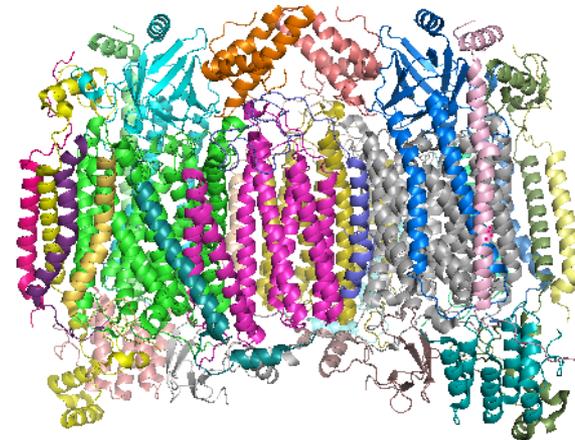
タンパク質の立体構造

- **4次構造**： 実際に機能するための、最終的なサブユニットの配置

サブユニット = 1本のポリペプチドからなるひとまとまりの構造



同じサブユニットが一組となることでDNAに結合する転写因子CgmR



それぞれ1-3個の異なるサブユニットから構成されるチトクロムc酸化酵素

(PDB: 2zoy, 3ag1より作図),

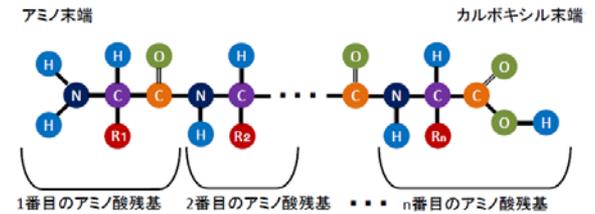


タンパク質の立体構造

- リボソームで合成されたポリペプチドは、いくつかの段階を経て立体構造を形成し、機能を持つタンパク質となります

1 次構造

低次構造



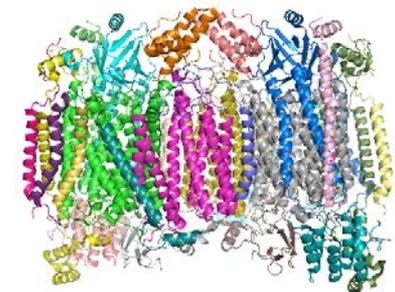
2 次構造

ポリペプチド

3 次構造

4 次構造

高次構造



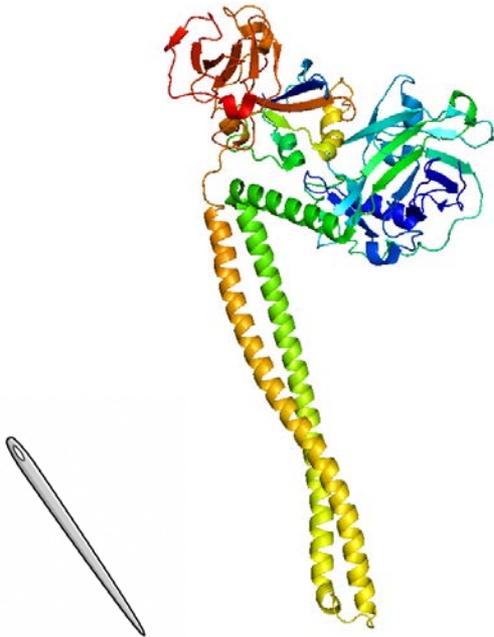
タンパク質

(PDB: 3ag1より作図)



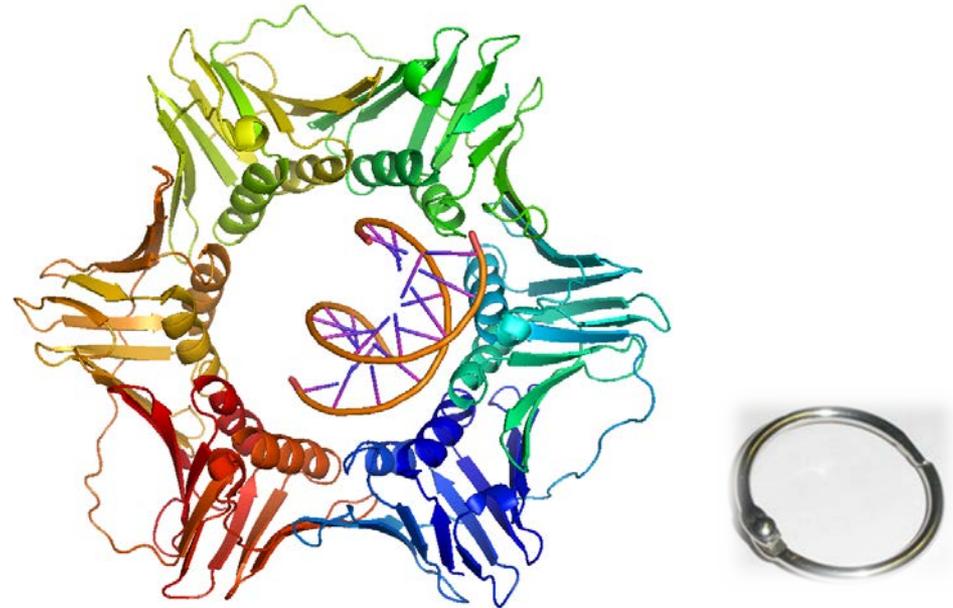
密接に関連する、タンパク質の構造と機能

- 「形は機能を表す」



Colicin E3毒素
長い「針」で突き刺さります

(PDB: 2b5uより作図)
出典: IPA「教育用画像素材集サイト」
<http://www2.edu.ipa.go.jp/gz/>



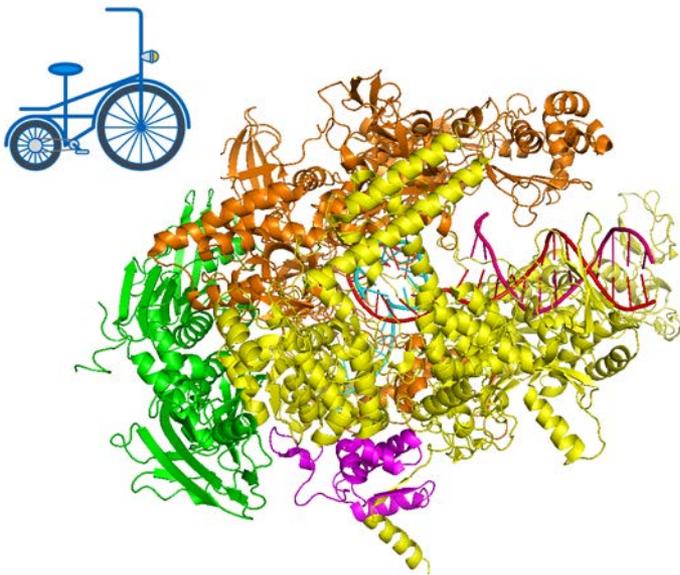
DNA複製に必要なPCNA
リングにDNAを通してDNA合成酵素と結合し
スムーズにDNA複製が進む様にガイドします

(PDB: 3k4xより作図)

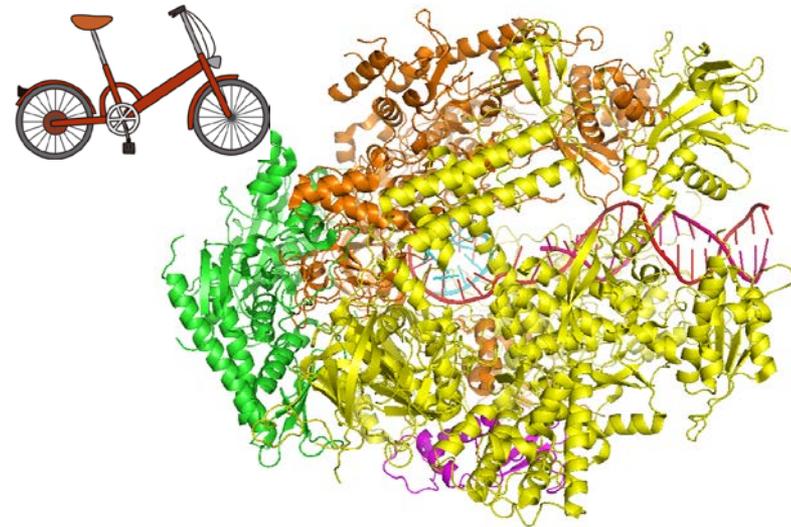


密接に関連する、タンパク質の構造と機能

- 同じ働き、似た形



原核生物のRNAポリメラーゼ
(5つのサブユニット)



真核生物のRNAポリメラーゼ
(12個のサブユニット)

構成するサブユニットの数や形が違っていても、立体構造は両者とも良く似ています

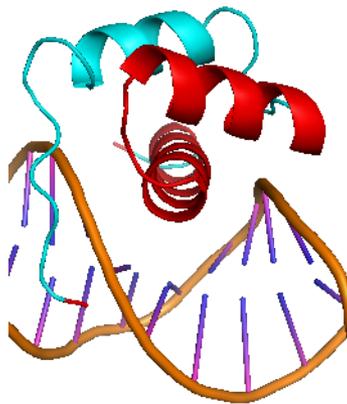


(PDB: 2o5i, 2e2iより作図)

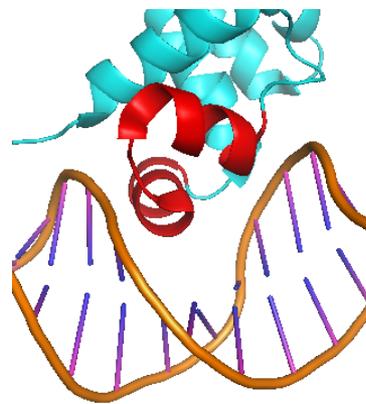
密接に関連する、タンパク質の構造と機能

- 共通の機能を持つタンパク質同士であれば、同じモチーフが見つかることが多い

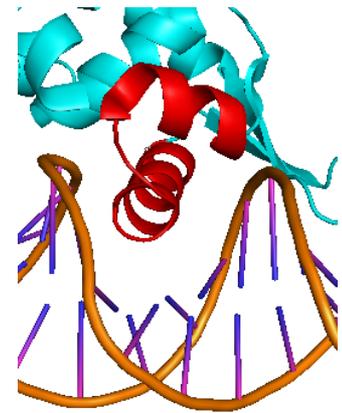
例) 多くのDNA結合タンパク質で見られる Helix-Turn-Helix (HTH)モチーフ



ラット転写因子PIT-1



コリネ菌転写因子CgmR



枯草菌転写因子OhrR

部品のレベルから、構造と機能は密接な関連

(PDB: 1au7, 2yvh, 1z9cより作図)



タンパク質はカタチに意味が有る

- タンパク質 =

ポリペプチドから作られる立体構造がその働きを支える



タンパク質はカタチに意味が有る

- タンパク質 =

ポリペプチドから作られる立体構造がその働きを支える

機能を詳しく知るためには、立体構造を調べる事が必要



タンパク質の立体構造決定の重要性

- タンパク質の1次構造は遺伝子の情報から決まる
- 1次構造と、より高次な立体構造との関係はいまだ不明

アミノ酸の並び順だけから、そのポリペプチドがどのような立体構造を形成するのは、現在のところまだ予測不可能です

ゲノム情報がわかっていても、タンパク質の構造や働きまではわかりません！



タンパク質の立体構造決定の重要性

- タンパク質の1次構造は遺伝子の情報から決まる
- 1次構造と、より高次な立体構造との関係はいまだ不明

アミノ酸の並び順だけから、そのポリペプチドがどのような立体構造を形成するのは、現在のところまだ予測不可能です

ゲノム情報がわかってても、タンパク質の構造や働きまではわかりません！

→ **立体構造を実験によって解析する必要があります**



顕微鏡では見えないタンパク質

- タンパク質の大きさはナノメートル（10の-9乗、10億分の1）台

$$1 \text{ nm} = 1/10^3 \text{ } \mu\text{m} = 1/10^6 \text{ mm} = 1/10^9 \text{ m}$$

- 光学顕微鏡のもつ分解能の限界（約 $0.2 \mu\text{m} = 200 \text{ nm}$ ）よりも小さい



顕微鏡では見えないタンパク質

- タンパク質の大きさはナノメートル（10の-9乗、10億分の1）台

$$1 \text{ nm} = 1/10^3 \text{ } \mu\text{m} = 1/10^6 \text{ mm} = 1/10^9 \text{ m}$$

- 光学顕微鏡のもつ分解能の限界（約 $0.2 \mu\text{m} = 200 \text{ nm}$ ）よりも小さい

顕微鏡の分解能は、光の波長に依存する！

（レイリーの定理）

$$\text{分解能} = (0.61 \times \text{光の波長}) / \text{レンズの開口数}$$

$$= (0.61 \times 400 \text{ nm}) / 1 \text{ 程度}$$

$$= 244 \text{ nm 以上}$$

可視光（400-700nm）では原理的に、
これ以上は不可能！！



顕微鏡では見えないタンパク質

- タンパク質の大きさはナノメートル（10の-9乗、10億分の1）台

$$1 \text{ nm} = 1/10^3 \text{ } \mu\text{m} = 1/10^6 \text{ mm} = 1/10^9 \text{ m}$$

- 光学顕微鏡のもつ分解能の限界（約 $0.2 \mu\text{m} = 200 \text{ nm}$ ）よりも小さい

顕微鏡の分解能は、光の波長に依存する！

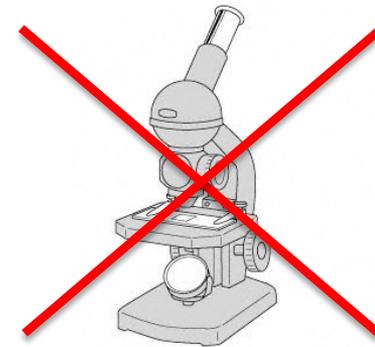
（レイリーの定理）

分解能 = $(0.61 \times \text{光の波長}) / \text{レンズの開口数}$

$$= (0.61 \times 400 \text{ nm}) / 1 \text{ 程度}$$

$$= 244 \text{ nm 以上}$$

可視光（400-700nm）では原理的に、
これ以上は不可能！！

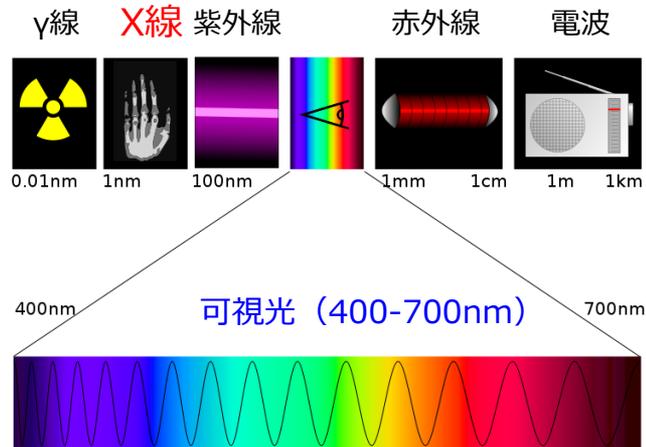


**分解能を上げるには、
より短波長の光を使うしかない！**

出典：IPA「教育用画像素材集サイト」
<http://www2.edu.ipa.go.jp/gz/>

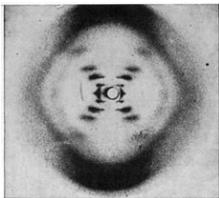


分子レベルでの構造観察に活躍するX線



出典：ウィキペディア（作者：Tatoute and Phrood）を改変

- より波長の短い**X線**
- 波長は分子を構成している原子と原子の間の距離にほぼ等しい
- 分子や原子のレベルで生命現象を観察する強力な手段



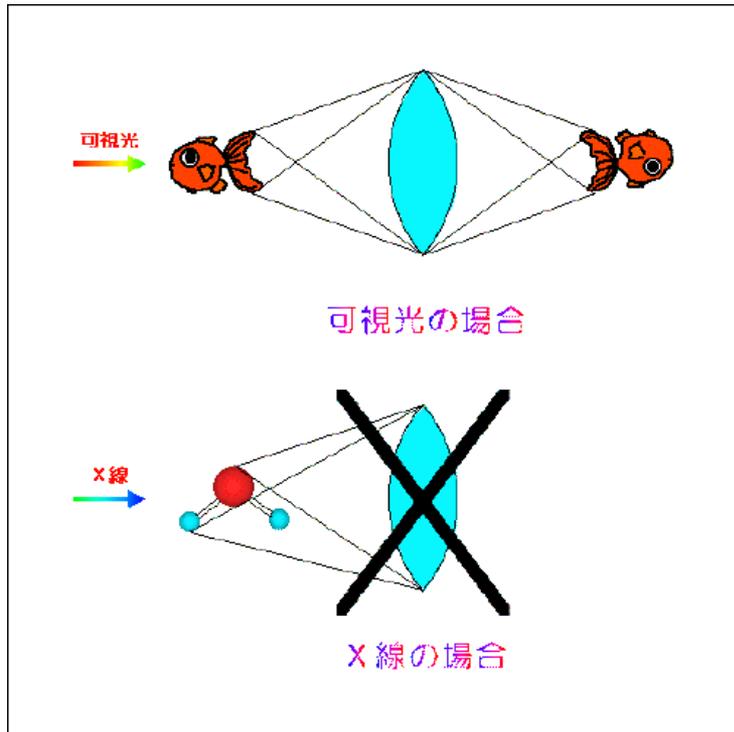
ワトソン、クリックが2重らせん構造を発見する手掛かりとなったフランクリンによるDNAのX線回折像

Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd: . FRANKLIN R. E. & GOSLING R. G., Nature (1953) 171, 740-741, copyright (2011)

分子生物学の発展に大きな貢献

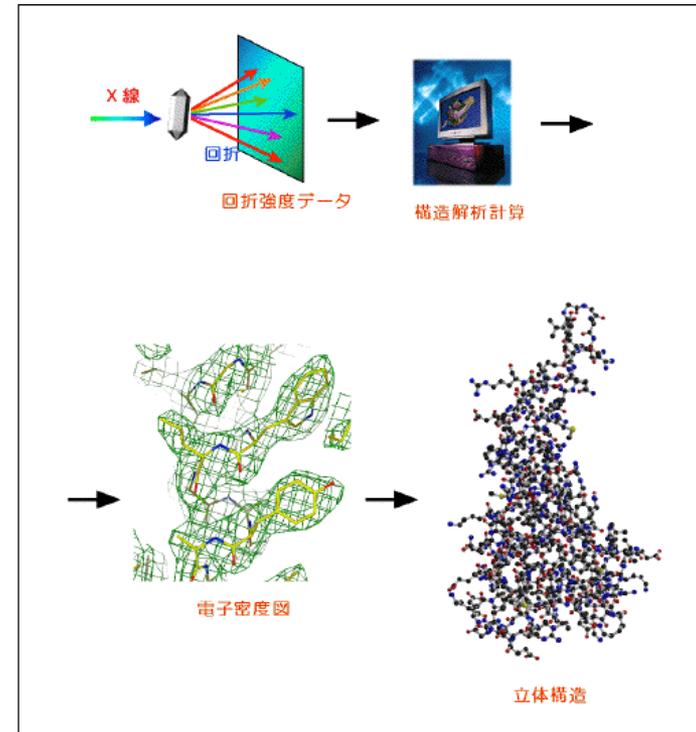


タンパク質X線結晶構造解析法



出典：北海道大学生命科学研究院 X線構造生物学研究室ホームページ

レンズが無いので、相手を直接見ることは出来ません

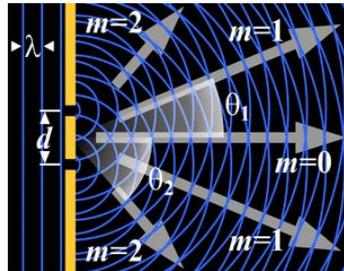


X線の回折という現象とコンピューターを利用する

X線結晶構造解析法

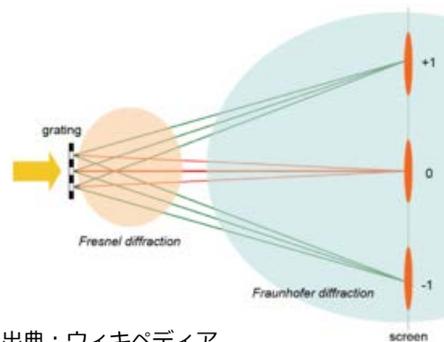


回折でタンパク質の形が見える？



出典：ウィキペディア
(作者：Peo)

回折：障害物の背後に波が回り込む現象。光も回折します。



出典：ウィキペディア

格子状のパターンに光を入射すると、回折した波は干渉により強め合ったり弱め合ったりし、**光の波長と格子に厳密に関連づけられる幾何学的模様（回折パターン）を形成する**

- 回折パターンから元の格子を計算により知る事が可能
- **タンパク質で格子をつくってX線を入射し、
得られた回折パターンからタンパク質の形が分かる**



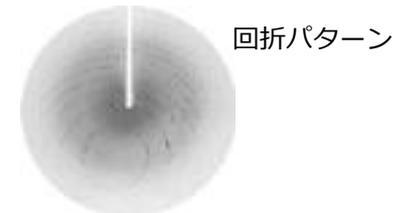
X線結晶構造解析法によるタンパク質の立体構造構造解析

目的とするタンパク質の調製



タンパク質分子による **3次元の格子**
タンパク質の形が様々な様に結晶の形も色々です

目的タンパク質の結晶化



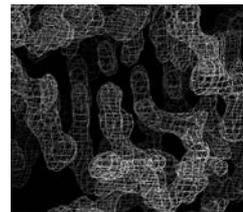
回折パターン

X線回折データの測定

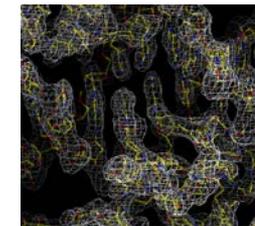
出典: © RIKEN/JASRI

タンパク質分子で出来た **格子** に強力なX線を入射し、**回折** により生じる斑点模様（回折パターン）を計測します

電子密度図の計算



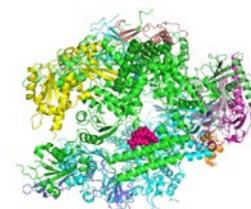
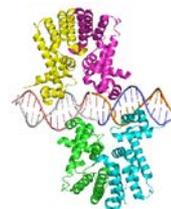
電子密度図



電子密度図にモデルを構築

分子モデルの構築

得られた構造を基に、機能を考察



(PDB: 2yv, 1k83より作図)

タンパク質の立体構造を解析する方法

- X線結晶構造解析法
- 核磁気共鳴法 (NMR)
- 電子顕微鏡による単粒子解析法
- 原子間力顕微鏡による解析法



出典: 自然科学研究機構・分子科学研究所
分子スケールナノサイエンスセンター



出典: ©(独)産業技術総合研究所

・・・などなど

知りたいことにあわせて、それぞれの手法を使い分けたり組み合わせます



生命の担い手、タンパク質

- 遺伝子の情報に基づいて作られる、**生命現象の直接的な担い手**
- アミノ酸が紐状につながった**ポリペプチド**で出来ている
- ポリペプチドは伸びきったままではなく、折りたたまって**独特の構造**をとり、機能を持つタンパク質となる
- タンパク質の**立体構造**と、働きとの間には密接な関係がある
- **アミノ酸配列から高次構造への関係は、いまだ謎の彼方**
- 研究を通じて**立体構造を知る事の必要性**
- **いろいろな手法を駆使して解析**される、タンパク質の立体構造



タンパク質研究の重要性

(基礎科学分野での貢献)

タンパク質は、生命現象の直接的な担い手となる分子です



タンパク質研究の重要性

(基礎科学分野での貢献)

タンパク質は、生命現象の直接的な担い手となる分子です

生命の仕組み、謎を解き明かすために不可欠



タンパク質研究の重要性

(医療、創薬分野での貢献)

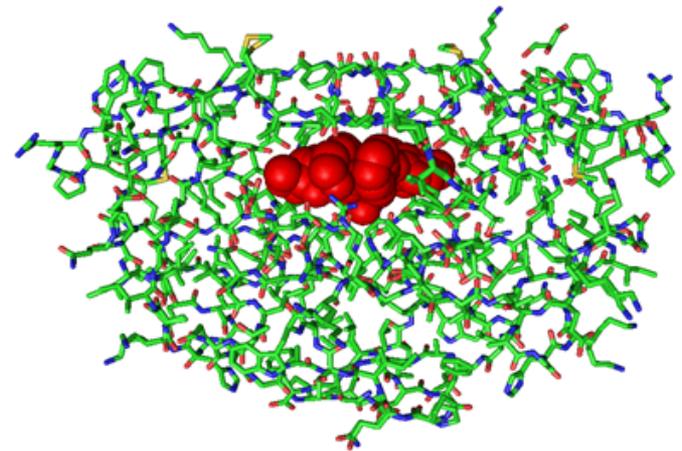
- タンパク質の働きの異常
 - 細胞の活動状態が崩れる
 - いわゆる病気



タンパク質研究の重要性

(医療、創薬分野での貢献)

- タンパク質の働きの異常
 - 細胞の活動状態が崩れる
 - いわゆる病気
- 薬 = タンパク質の働きを調節し、細胞が元のバランスを取り戻す事を助ける化合物



HIVが持つ酵素とその阻害剤との複合体

(PDB: 1ok9より作図)



タンパク質研究の重要性

(医療、創薬分野での貢献)

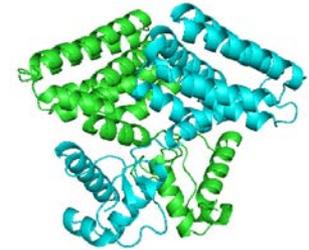
- タンパク質の働きの異常
 - 細胞の活動状態が崩れる
 - いわゆる病気
- 生命維持に必須なタンパク質の働きが先天的に不順な細胞へ正常な機能を持つタンパク質の遺伝子を導入することで、病気を治療 (遺伝子治療)



タンパク質研究の重要性

(産業分野での貢献)

- 暮らしに役立つ微生物や植物の生長促成
- 環境保持のための植物の改変
- タンパク質を用いたバイオマシーン

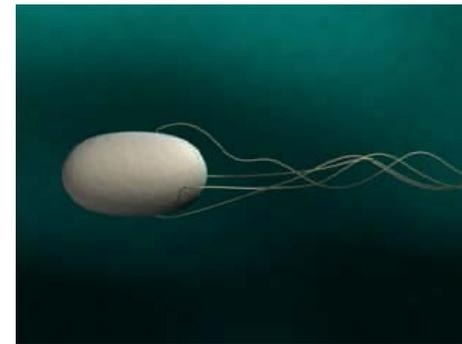


グルタミン酸生産菌の細胞内への栄養取り込みを行うタンパク質の遺伝子を調節するタンパク質LldR
このタンパク質の働きを変える事で、生産菌の成長が早くなる。うまみ調味料の値段が下がる日も近い???

(PDB: 2di3より作図)



出典：文科省ターゲットタンパクバンク



出典：ERATO ナノプロトニックマシンプロジェクトweb site

タンパク質研究の成果は、我々の暮らしにも直結
(応用分野での貢献)



まだまだ続くタンパク質研究

- 科学は先人から受け継がれてきた知識の集大成

これまで構造が解析されず、機能も良く分かっていなかったタンパク質への理解が進むことで明らかになる新たな知見

知識の蓄積がもたらす、新たな医療・創薬あるいは産業界への応用



まだまだ続くタンパク質研究

- 科学は先人から受け継がれてきた知識の集大成

これまで構造が解析されず、機能も良く分かっていなかったタンパク質への理解が進むことで明らかになる新たな知見

知識の蓄積がもたらす、新たな医療・創薬あるいは産業界への応用

- タンパク質立体構造形成の謎はいつ解ける？

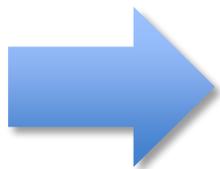
ゲノム情報だけがわかってても、生命の謎は解けません！

人智は、タンパク質が立体構造を形成するルールを見いだせるのか？

1次元の配列情報から、3次元構造へと変換される過程に潜む大きな謎！

→ 生命の担い手タンパク質研究の新たな時代の幕開け





タンパクを知っていますか (1)

生き物から分子へ

