

生体高分子構造論

タンパク質構造の決定

1

構造解析法

タンパク質の形を観る方法

X線結晶構造解析

NMR (核磁気共鳴)

中性子結晶構造解析 **大きい結晶が必要**

電子顕微鏡 **分解能が悪い**

2

タンパク質の形を**精密に**観る方法

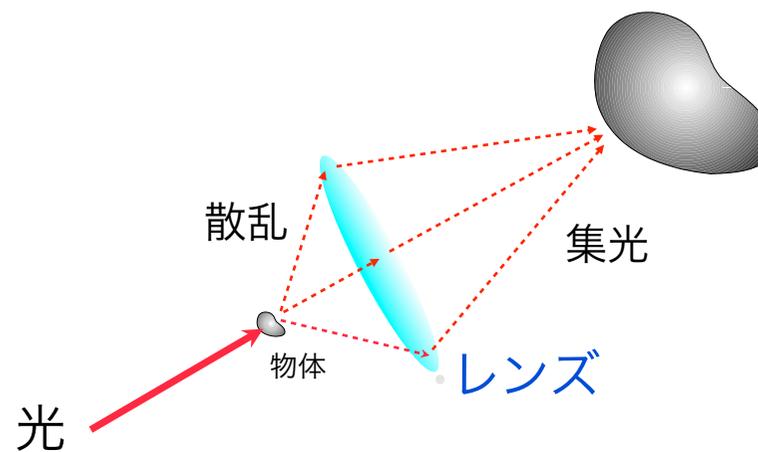
NMR

X線結晶構造解析

1万 10万 100万 分子量

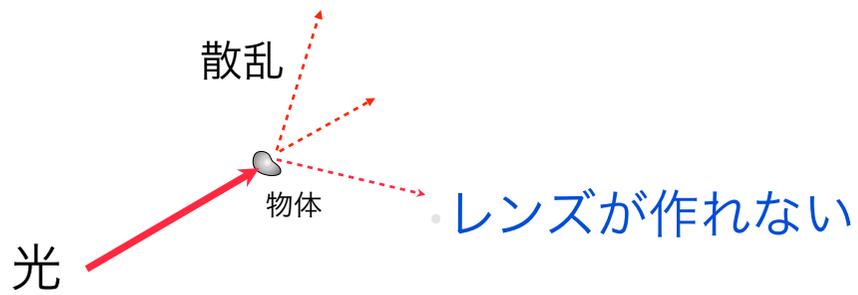
3

物を見るということ



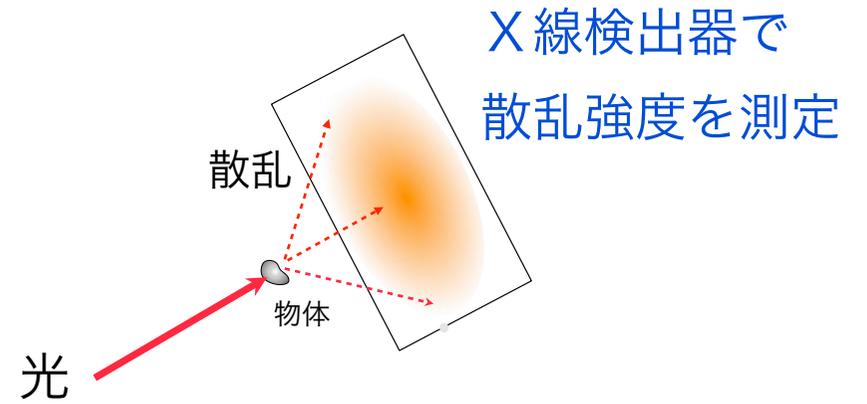
4

X線の場合の問題



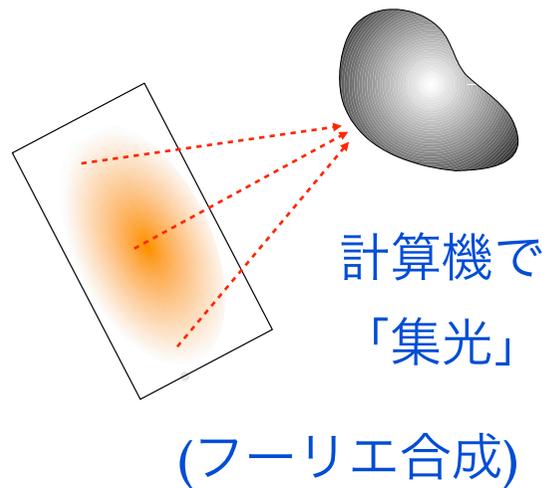
5

X線の場合



6

X線の場合

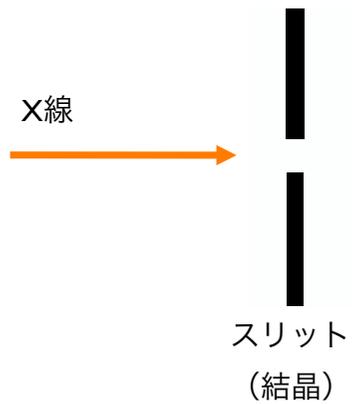


7

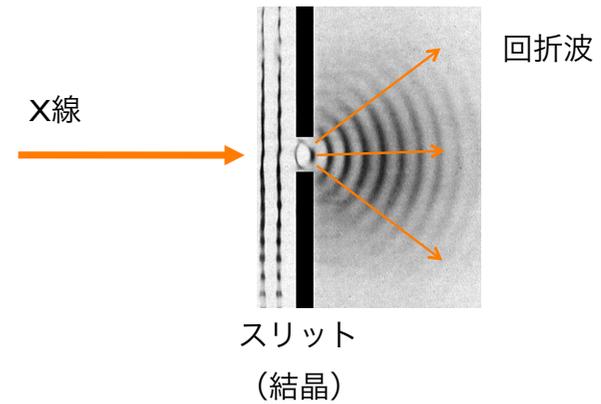
結晶とX線回折

8

X線「回折」を利用する

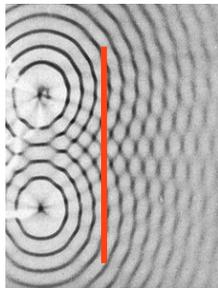


回折とは

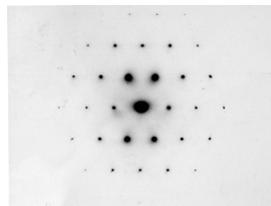


回折を利用するということ

2次元の回折波



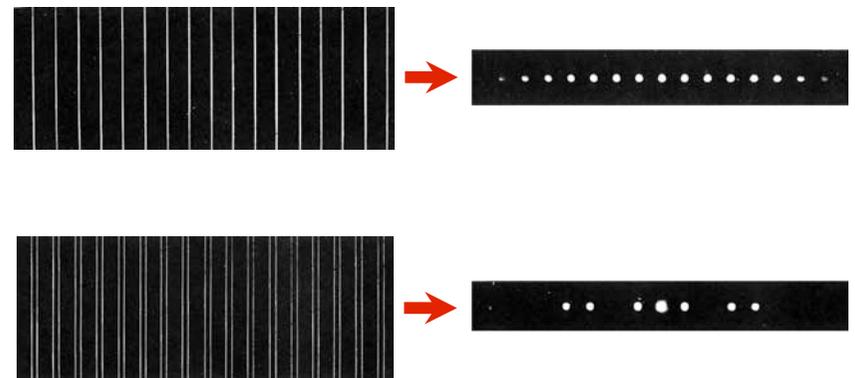
3次元の場合



観測する光 (X線) の波長と物質の構造の大きさは同じくらい

回折を利用する

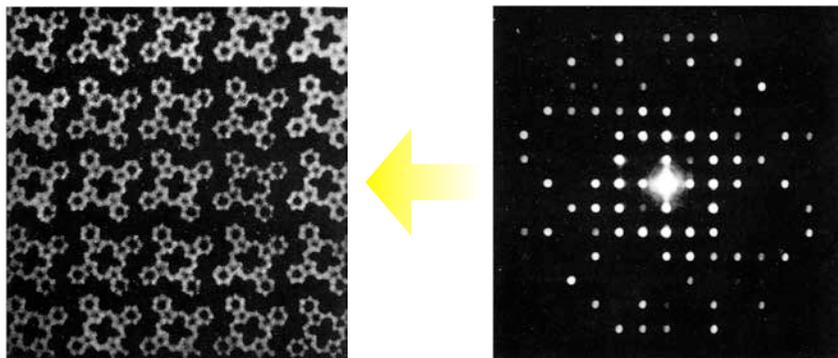
一次元の場合



「化学結晶学」 C.W.Bunn 培風館(1970)

回折を利用する

二次元の場合



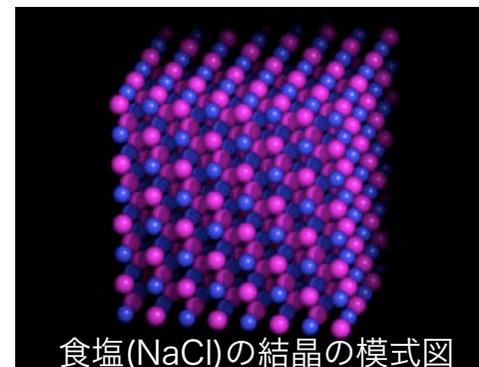
「化学結晶学」 C.W.Bunn 培風館(1970)

13

回折を利用する

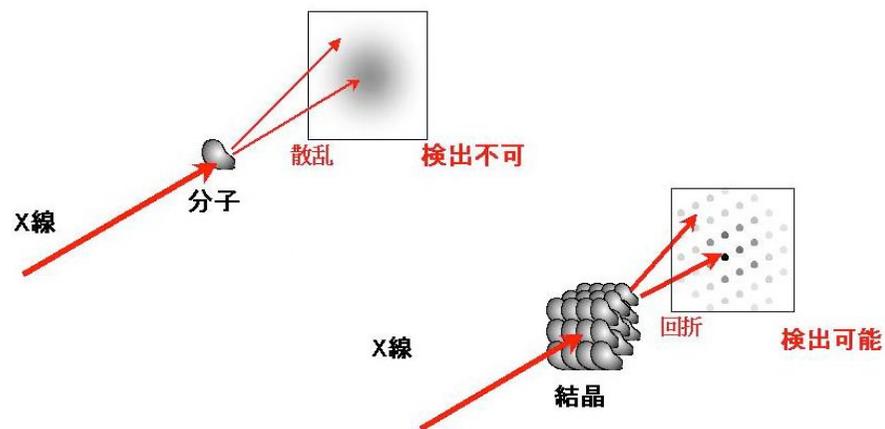
三次元の場合

結晶を作れば、分子を規則正しく並べられる



14

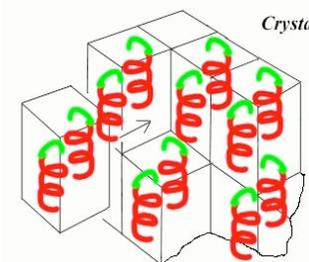
結晶と回折強度



非常に多くの分子が散乱（回折）に寄与する
結晶が信号増幅器として働く

15

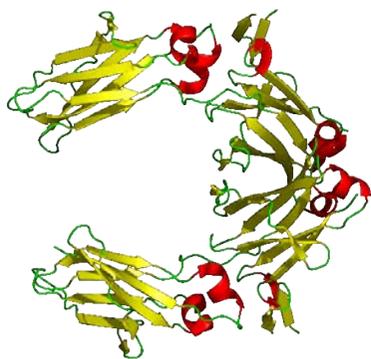
タンパク質結晶の成り立ち



単結晶：分子が何らかの規則で三次元的に周期的に並ぶ

16

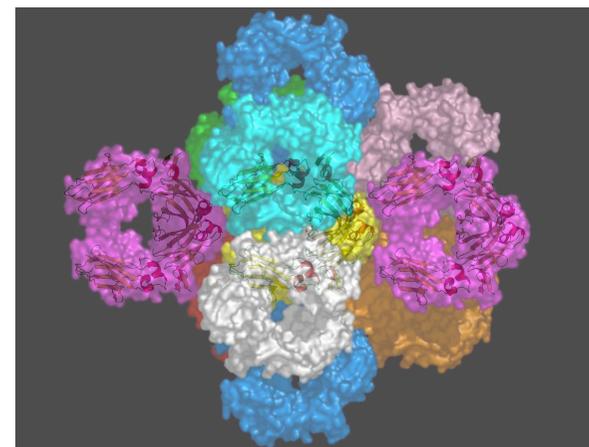
複雑な形をしているタンパク質分子



免疫グロブリンλの一部

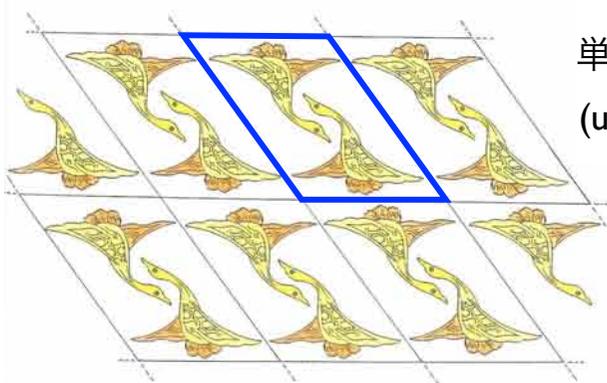
17

タンパク質分子のパッキング



18

そもそも「結晶」とは...



単位格子
(unit cell)

Fig. 18-1

19

タンパク質の結晶



たぶん 0.1mm くらい

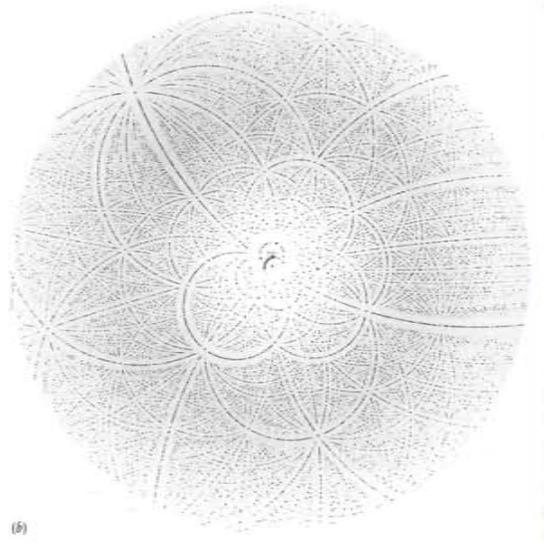


RuBisCoの結晶

Fig. 18-2

20

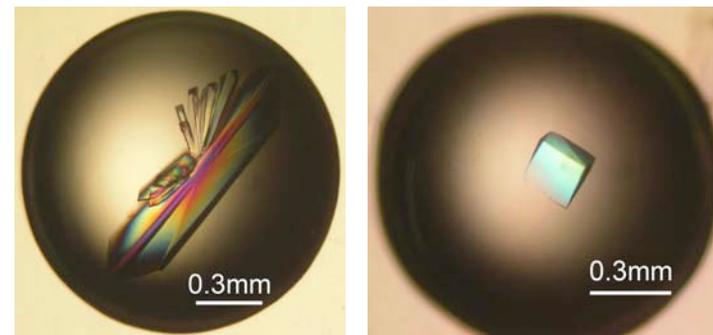
X線回折写真の例



ラウエ写真

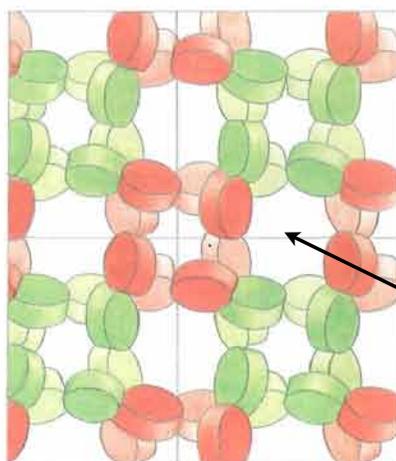
Fig. 18-2

タンパク質の結晶の例



10億~100億個のタンパク質分子が規則正しく並んでいる

結晶中のタンパク質分子

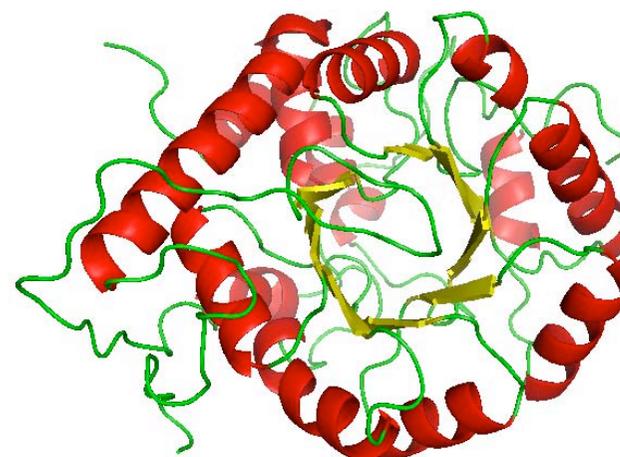


体積の半分くらいが
「水」

チャンネルがある

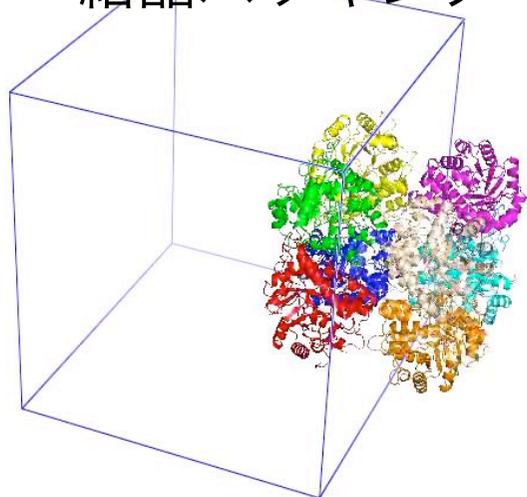
Fig. 18-3

グリコール酸酸化酵素



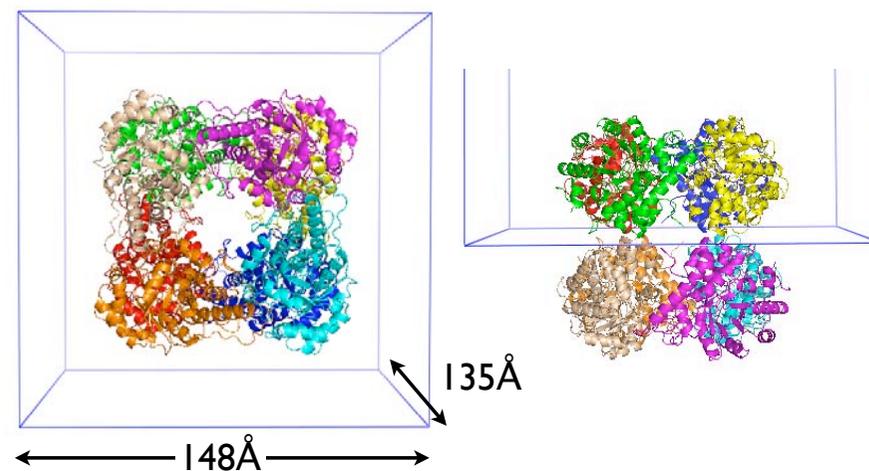
PDB ID: 1gox

グリコール酸酸化酵素の 結晶パッキング



25

グリコール酸酸化酵素の 結晶パッキング



26

タンパク質の結晶化法

27

ハンギングドロップ法

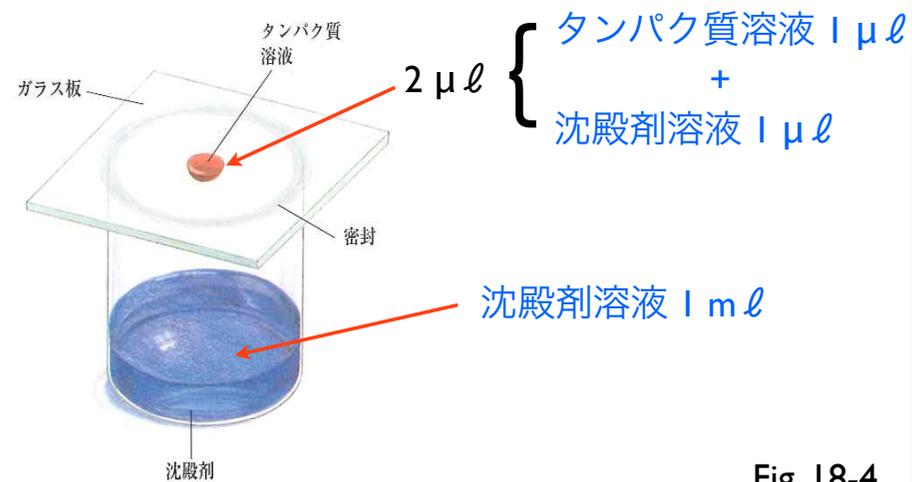
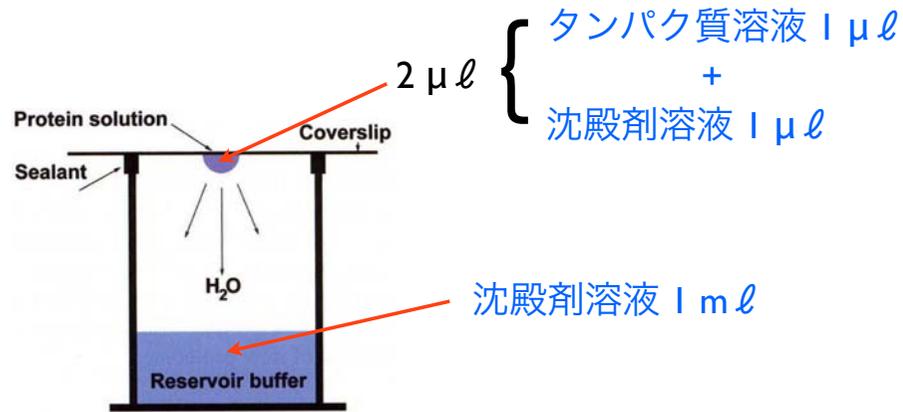


Fig. 18-4

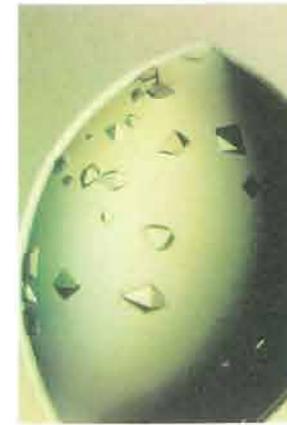
28

ハンギングドロップ法



29

成長した結晶の例



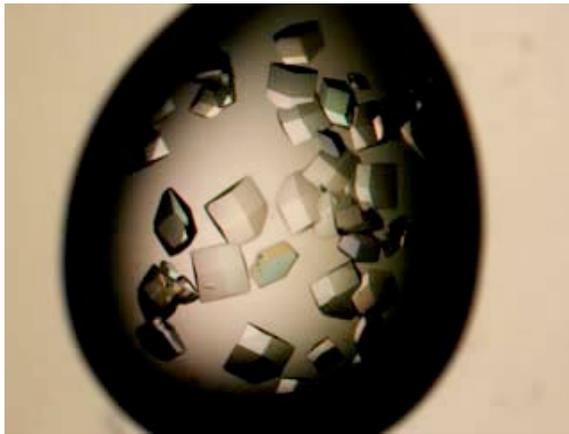
たぶん 5 mm くらい



Fig. 18-4

30

リゾチーム結晶成長の様子

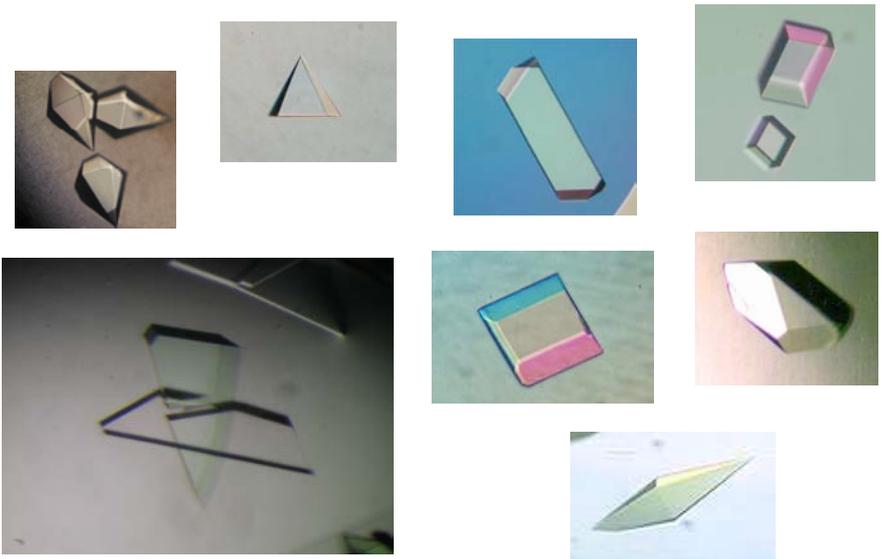


たぶん 5 mm くらい

Newcastle Structural Biology
Laboratory (@YouTube)

31

いろいろなタンパク質の質結晶



32

回折実験

構造解析に必要なX線は？

•波長 $2d \sin \theta = \lambda$
 $d \sim \text{\AA}$ くらい $\Rightarrow \lambda \sim \text{\AA}$ くらいが必要

•波長純度 (単色性)

•強度 強ければ強いほど良いのか？

結晶にX線を当てて回折を測定する
強い \Rightarrow 小さい試料, 短い測定時間
しかし: 放射線ダメージの問題, . . .

X線源

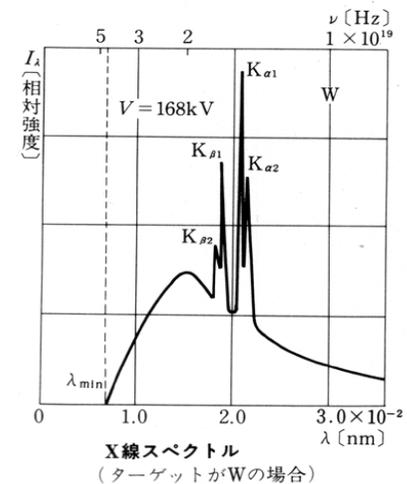
実験室のX線発生装置 波長固定

シンクロトロン放射光 波長可変, 高輝度

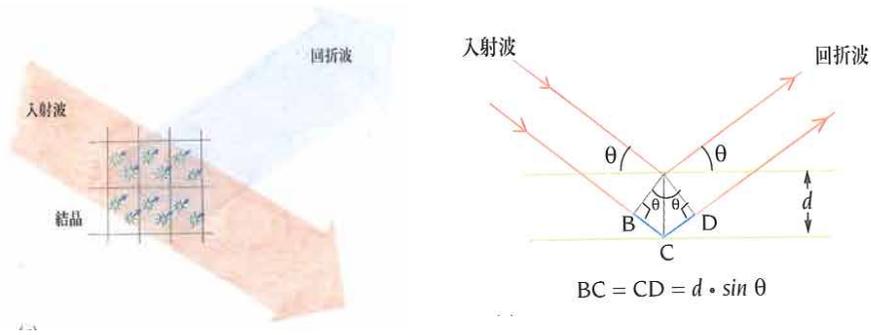
(X線レーザー)

実験室のX線発生装置

使える波長が限られていて「不連続」



ブラッグの法則

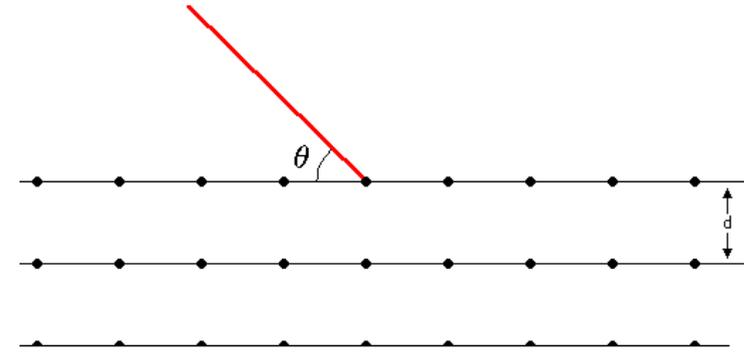


$$2d \sin \theta = \lambda$$

Fig. 18-6

41

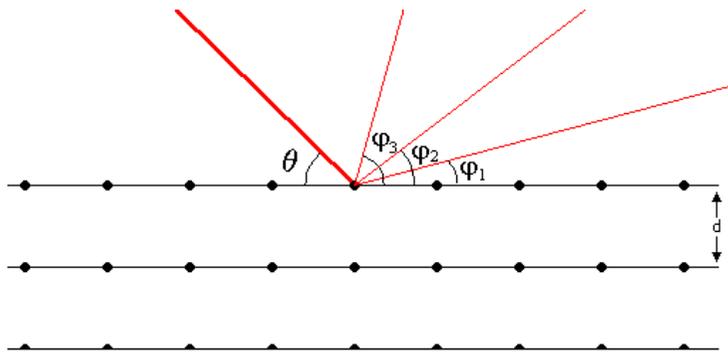
ブラッグの法則



X線が、結晶面に θ で入射

42

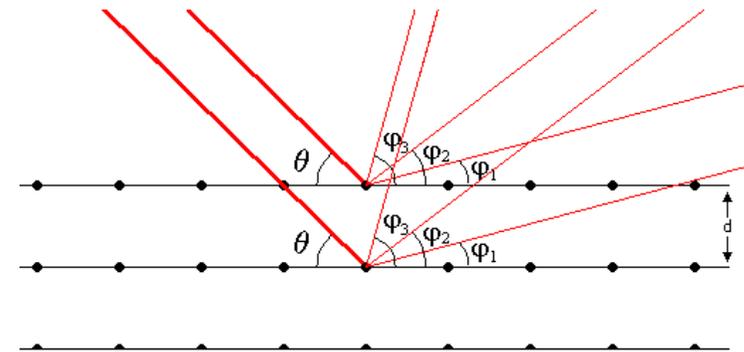
ブラッグの法則



- 表面の原子層では、あらゆる方向に反射される
- この反射X線の強度は弱い.

43

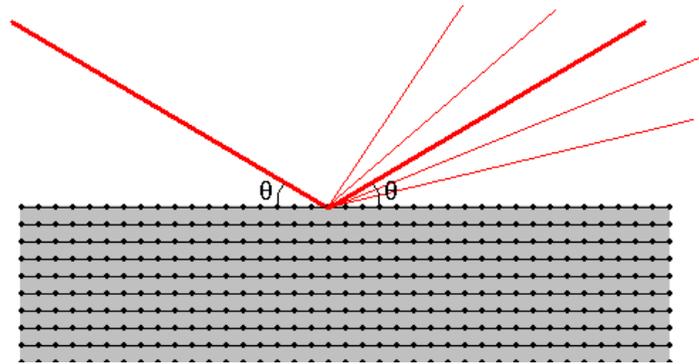
ブラッグの法則



- さらに下の原子層からも散乱される.
- 2層目だけでなく、数千層

44

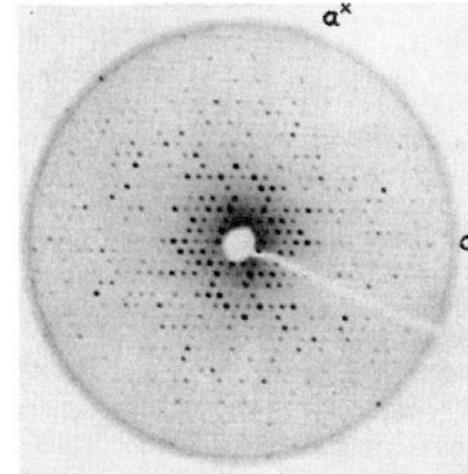
ブラッグの法則



- それらが干渉し、特定の方向への散乱が強めあって検出可能となる. $2d \sin \theta = \lambda$

45

結晶からの回折パターン



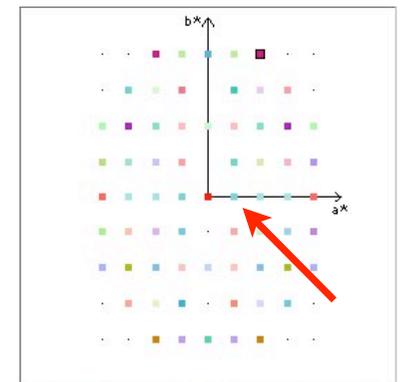
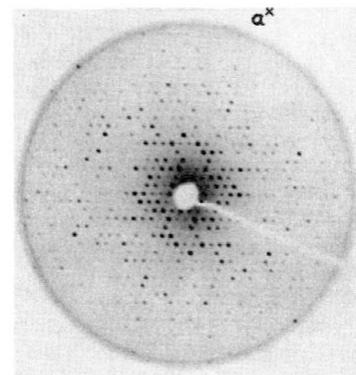
ヘモグロビンの結晶のX線回折写真

46

構造解析

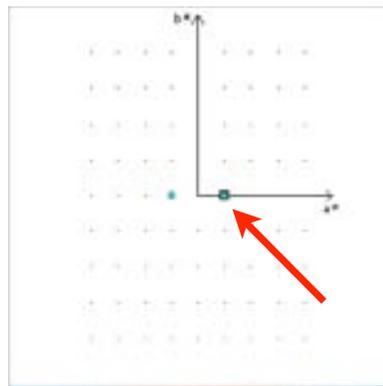
47

回折点の意味



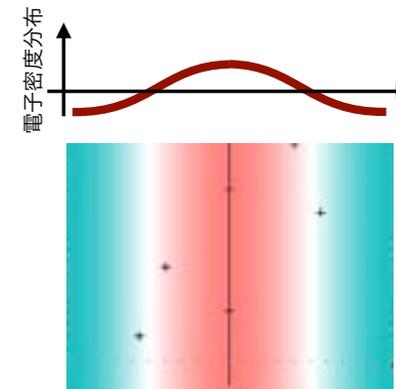
48

回折点の意味



49

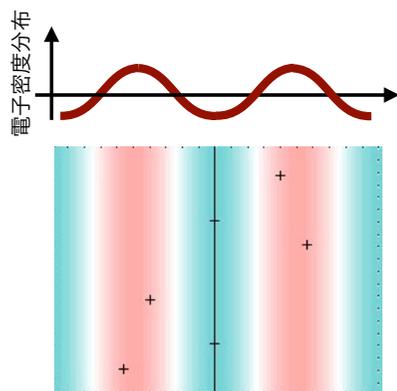
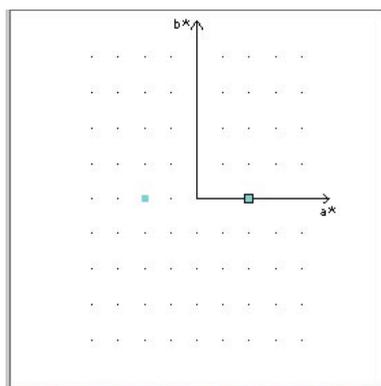
回折点の意味



結晶格子中の電子密度分布

50

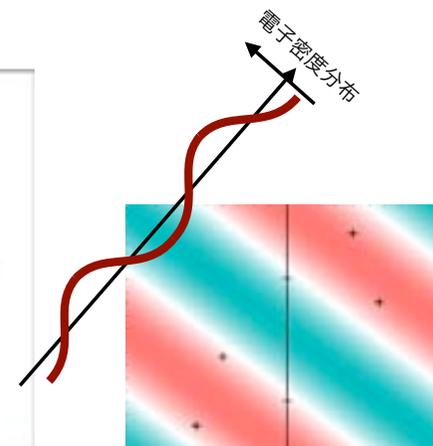
回折点の意味



結晶格子中の電子密度分布

51

回折点の意味



結晶格子中の電子密度分布

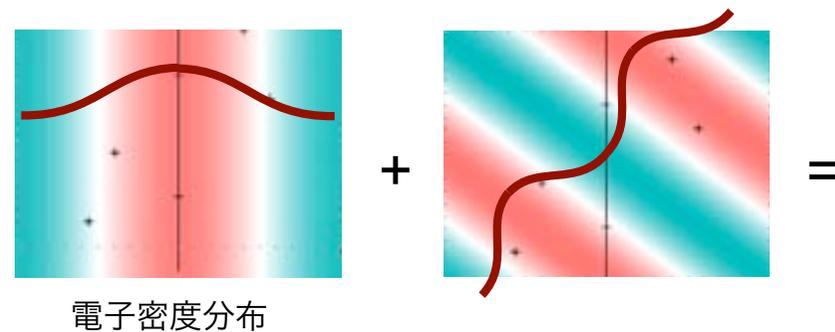
52

フーリエ合成



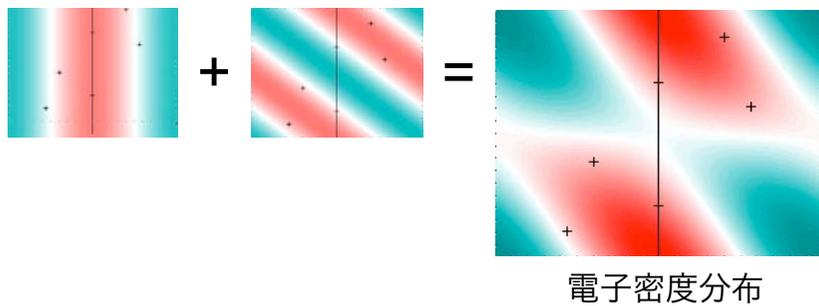
53

フーリエ合成



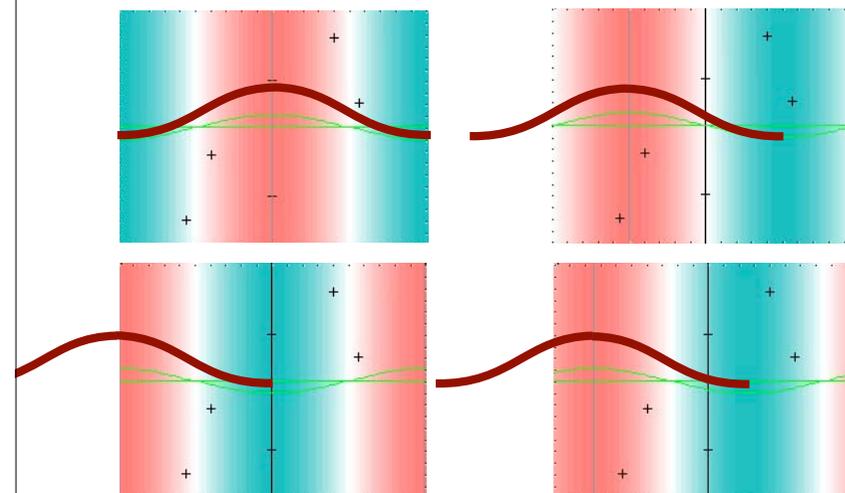
54

フーリエ合成



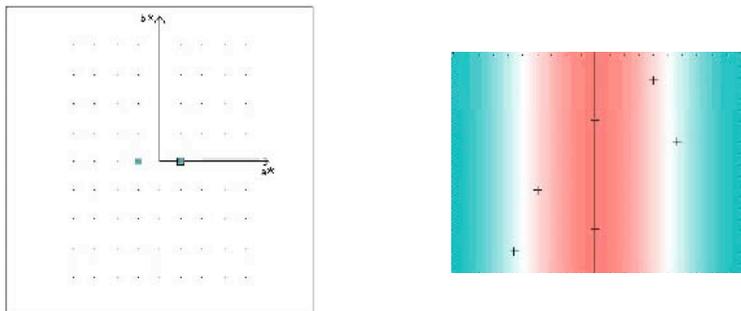
55

位相問題



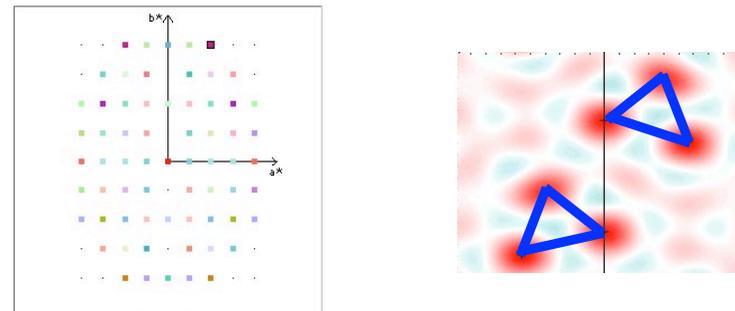
56

フーリエ合成



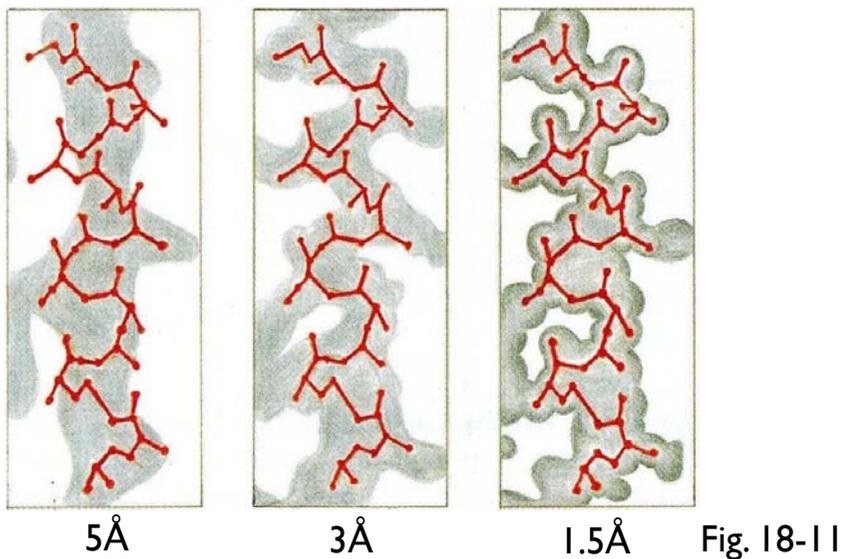
57

フーリエ合成



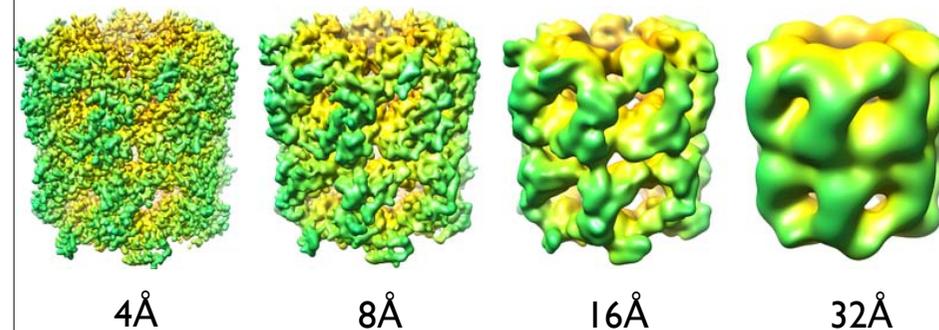
58

「分解能」と電子密度図



59

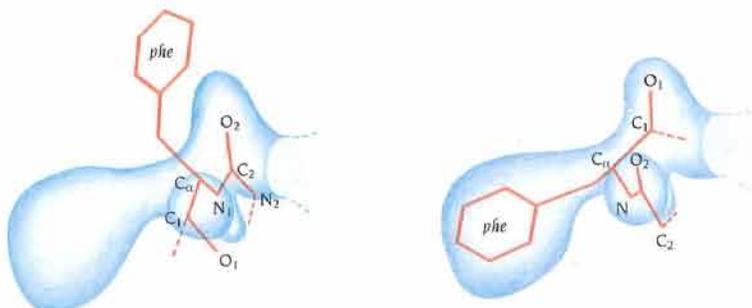
GroELの見え方



[http://en.wikipedia.org/wiki/Resolution_\(electron_density\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Resolution_(electron_density))

60

X線結晶構造解析

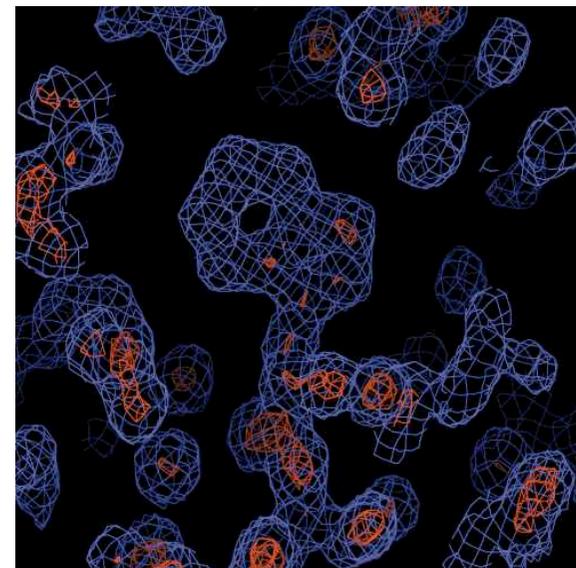


電子密度分布図にモデルを組むこと

Fig. 18-12

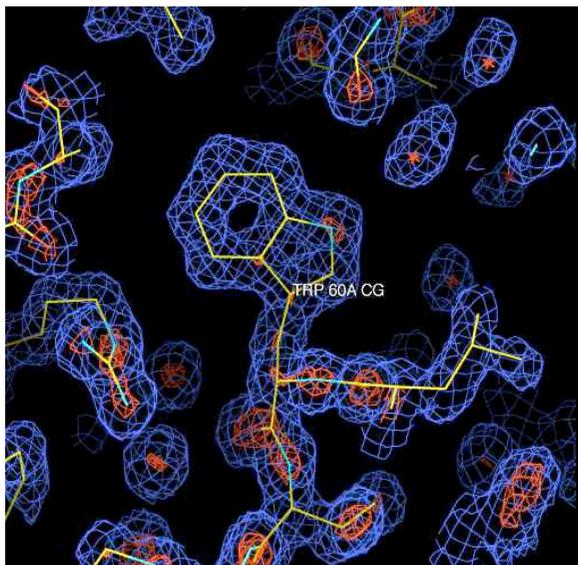
61

X線で見える電子密度分布の例



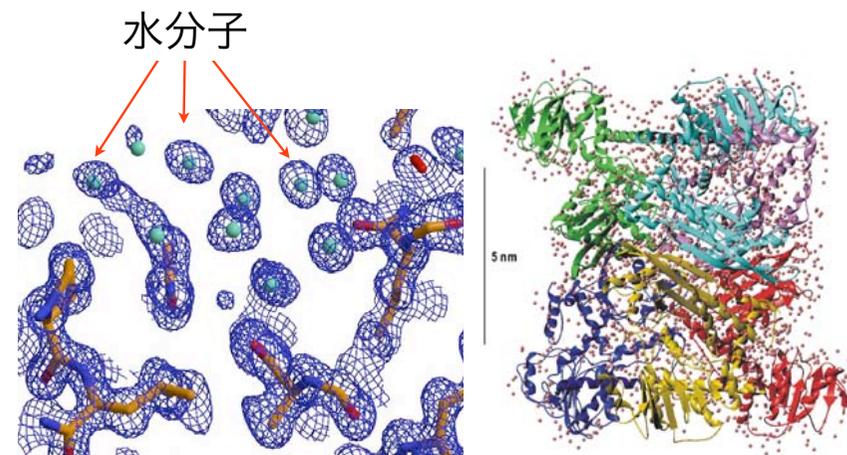
62

電子密度分布図の中にモデルを組む



63

タンパク質の水和水も見える

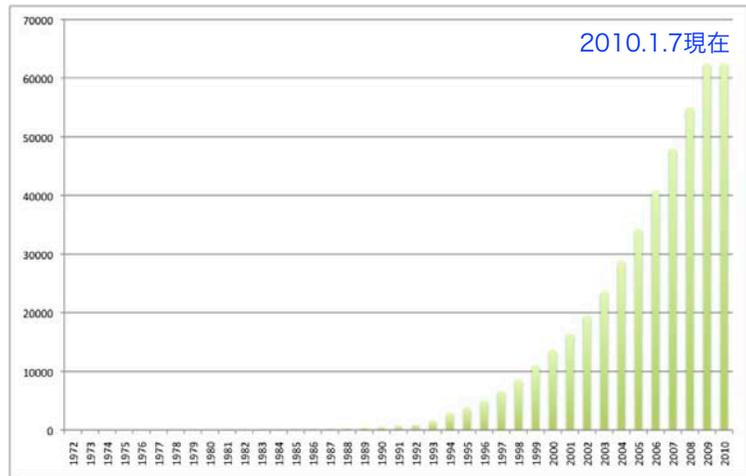


Nakasako, M. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B* 359, 1191-204 (2004)

64

構造解析の現在

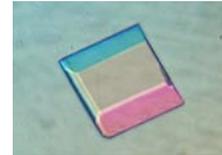
Protein Data Bank 登録数 62,430構造



<http://www.pdbj.org/>

65

レポート課題



もしも結晶の大きさが、 $0.1 \times 0.1 \times 0.1$ mm だったら、その結晶中には、タンパク質分子が、およそいくつくらい含まれているか考えてみよ。

タンパク質分子は、何でも良い。

どういう仮定をして、どういう計算を試みたかも示せ。

66