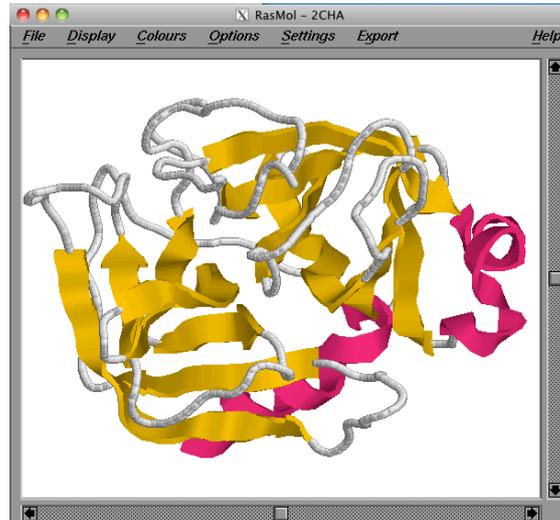


RasMol によるタンパク質立体構造のグラフィックス表示

現在タンパク質の三次元構造を表示し観察することが出来るソフトは多数存在している。ここでは、小型簡素な RasMol でタンパク質の立体構造を表示し、自由な方向からグラフィックス上で観察できるようにする。RasMol は、オープンソースのフリーソフトで、UNIX, Windows, MacOS で利用可能である。様々な構造の表示法が用意されている。ここでは渡邊のホームページに置いておく「セット」をダウンロードして使用する。



詳細な使用法等のヒント(マニュアル等)については RasMol のサイト <http://www.openrasmol.org/> にアクセスすると得られる。

観察するタンパク質について：セリンプロテアーゼの一種、キモトリプシンの X 線結晶構造解析は、1975 年に Birktoft らによるウシ由来酵素の 2.0Å 分解能モデルを端緒として、数多くの解析例が報告されてきている。ここでは、ウシ由来キモトリプシンと阻害剤 (p-トルエンスルホン酸; TOS) の複合体の立体構造 (Birktoft et al.,1975) をもとに、RasMol を用いた実習を行う。

手順：

1. RasMol プログラムとタンパク質の構造データをダウンロードする。

<http://www.nusr.nagoya-u.ac.jp/WatanabeLab/Lectures/Data>

から「セット(RasMol_and_data.lzh)」をダウンロードする。解凍して保存する場所は必ず「マイドキュメント」にすること。

2. ダウンロードした RasMol プログラムを実行する。

保存した RasWin フォルダの中の raswin.exe をダブルクリックすると、黒い背景のウィンドウが表示される。(途中、寄付要請のウィンドウが開くが”OK”とする)。

3. タンパク質の構造の表示(基本操作)

メニューの中の[File]-[Open]を選び、保存した「セット」中のキモトリプシン-阻害剤複合体の座標データの PDB 形式の構造データ (2CHA.pdb) を指定して読み込む。

① タンパク質構造の表示法の変換

プルダウンメニューの[Display]から8種類の表示法をそれぞれ選択し、各表示法の違いを確認する。(“Molecular Surface”表示はPCの性能によっては非常に時間がかかるかも知れないので、やらなくても良い。)

② タンパク質の表示カラーの変換

プルダウンメニューの[Colours]から表示カラーをそれぞれ選択し、違いを確認する。

③ 視点の変換

分子の移動・・・・・・・・右クリックをしながらマウスを動かす。

分子の回転・・・・・・・・左クリックをしながらマウスを動かす。またはShiftを押しながら右クリックをしてマウスを動かす。

分子のスライス・・Ctrlを押しながら左(または右)クリックをしてマウスを動かす。

分子のズーム・・・・・・・・Shiftを押しながら左クリックをしてマウスを動かす

4. コマンド操作.

rasmol には2つのウィンドウがある。各種のコマンド(命令)を入力するコマンド・ウィンドウと分子モデルを表示するグラフィック・ウィンドウである。コマンド・ウィンドウは、画面下のメニューバーの RasMol Command Line をクリックすると表示される。

①. 回転の中心の定義・・コマンドラインに「center(空白)残基番号」と入力することにより、選択したアミノ酸残基を中心に回転させることができる。残基番号を省略し「center」とすると分子の中心になる。

②. ステレオ表示・・奥行方向を見やすくするためには「stereo」としてステレオ表示(交差法表示)にすることも出来る。

③. 使用することを勧めないが、例えば「japanese」というコマンドもある。

課題 1 このタンパク質に含まれるヘリックスおよびβストランドの数はいくつか。

上記の項目3でやってみた表示方の中から、課題解決に適切な表示法を使用すること。ステレオ表示にすると立体的に観察することも可能(好みによる)である。

5. 特定のアミノ酸残基に対するコマンドの実行

コマンドラインに「select(空白)残基番号」と入力することにより、選択したアミノ酸残基に対してのみ Display や Colours などの変更を行うことができる。また、再びすべてのアミノ酸残基に対してコマンド実行を行うことができるようにするには「select all」と入力するか、プルダウンメニューの[Edit]-[Select all]とする。

課題 2 1 番目のアミノ酸はシステインである。このシステインは、タンパク質中の他のシステイン残基とジスルフィド結合を形成しているが、何番目のアミノ酸残基と形成しているか。

(参考) まず「select all」とコマンドラインに入力し全体を選択した後、[Colours]を [Monochrome]に、[Display]を[Backbone]にする。次に「select cys」として全部のシステインを選択し、[Display]を[Ball & Stick]する。その後「select 1」とコマンドラインに入力して1番目のシステインだけを選択して、[Colours]を[CPK]にし、「center 1」とすると観察しやすい(かなと思うが各自工夫してみよ)。グラフィックス画面上で特定の原子をクリックすると、その原子の情報がコマンドコマンド・ウィンドウに表示される。(ちなみに、その時点で select されていない原子をクリックしても何も表示されない。)

課題 3 (ヘリックス)

このタンパク質は、C末端側 (Arg 230 から Val 235 の領域および Val 235 から Asn 245 までの領域) に2つのヘリックスが連続して形成されている。

- 1) これらのヘリックスにおいて、主鎖原子間で形成されている水素結合を確認し、何残基離れた主鎖の C=O と N-H が水素結合を作っているか調べよ。
- 2) α ヘリックスは軸方向からみて1残基あたり約何度回転し、何残基で一回転するか。
- 3) このヘリックスを軸方向から見ると、Val 234, Val 235, Val 238, Leu 242 というように、疎水性アミノ酸がヘリックスの同じ側にかたまり、他方の面に親水性アミノ酸がかたまっている。このことは、タンパク質が立体構造を形成する上でどのような意味があるのか考察せよ。

分子全体を表示していると煩雑で分りにくい。注目するヘリックスのみを選択して表示する。一度[File]-[Close]して、再度分子を読み込み直した方が良いかも知れない。また、「colour (色)」コマンドによって選択している原子の色を変えることができる。観察とは関係ない原子を「colour grey」とコマンドを打って暗い灰色にしておくと観察しやすい。

7. 選択コマンドの例。(詳細は <http://www.openrasmol.org/> を参照。)

「select 50-60」 : 50 番目から 60 番目までのアミノ酸を選択

「select 50,60,70」 : 50, 60, 70 番目のアミノ酸を選択

「select cys」 : システインのみを選択 (アミノ酸の3文字表記に対応)

RasMolではアミノ酸の性質毎に hydrophobic や polar といったグループ名が定義されているので、性質の違うアミノ酸の表示色を変更することも可能である。グループ名の定義は次のページの付録の表を参照のこと。

6. 主鎖間の水素結合の表示

コマンドラインに「hbond」と入力すると、水素結合をとりうる距離にある原子同士が検索され、コマンド・ウィンドウに水素結合の数が、グラフィック・ウィンドウには破線で水素結合が表示される。水素結合の破線は「hbond off」というコマンドで非表示にできる。再び表示させたい場合は「hbond on」というコマンドを入力する。水素結合の線の太さを変更したい場合は、例えば「hbond 20」とか太さの数字を付加すれば良い。

===== ここまで初回の課題。以下は2回目の課題 =====

課題4 (β シート)

Gln 81 から Asn 91 よりなる β ストランドと Ile 103 から Leu 108 よりなる β ストランドによって形成される β シートについて、以下の課題について考察せよ。

- 1) この β シートは、何個の主鎖水素結合によって形成されているか。
- 2) この β シートは平行、逆平行のどちらか。

課題5 (β ターン構造)

上記の β シートが形成されるため2つの β ストランドの間に β ターン構造が形成されている。 β ターン構造は一般的に、 i 番目のアミノ酸残基の主鎖の CO と、そこから3残基離れた $i+3$ 番目のアミノ酸残基の主鎖の NH との間で水素結合が形成されることにより安定化されている。上記の β ターン構造における i 番目のアミノ酸と $i+3$ 番目のアミノ酸の種類は何か。

ギリシャキーモチーフの観察

教科書の Fig.2-15 にある Staphylococcus nuklearゼのギリシャキーモチーフを例に、コマンドの使用のみで表示の変更が可能なることを練習してみる。以下は例。各自工夫して良い。

1stn.pdb を読み込む。

「select all」, 「wireframe」, 「cpk off」, 「restrict backbone」, 「cartoons」

「select sheets」, 「colour green」, 「select 6-19」, 「ribbon 499」, 「colour green」

課題 6 (β ターンの種類とラマチャンドラプロット)

TypeI.pdb および TypeII.pdb を読み込み、I 型と II 型のヘアピンループの構造を観察し、それぞれの i+1 番目と i+2 番目の残基のラマチャンドラプロットをせよ。

ある結合の二面角(トーション・アングル)は、[Settings], [Pick Torsion]をチェックした後、二面角を定義する 4つの原子を N 末側から順にクリックすると、コマンド・ウィンドウに二面角が表示される。(このラマチャンドラ・プロット上の位置が I 型と II 型を定義している。)

===== 付録 =====

RasMol のマウス操作

[操作]	[動作]
マウスの左ボタン	回転 (X軸、Y軸まわりの回転)
マウスの中ボタン	移動 (X、Y方向への並進)
Shift キー + マウスの左ボタン	ズーム (拡大、縮小)
Shift キー + マウスの右ボタン	Z軸まわりの回転
Control キー + マウスの左ボタン	切断表示 (Slab) の切断面をZ軸に対して調節

定義済みグループ

at	AかTの塩基	acidic	AspかGlu	acyclic	環を持たない
aliphatic	脂肪族のAGILV	alpha	Cα原子	amino	アミノ酸
aromatic	芳香族 HFWY	backbone	主鎖の原子	basic	Arg,His,Lys
bonded	他原子と結合	buried	ACILMFWV	cg	CかGの塩基
charged	電荷RDEHK	cyclic	環を持つHFPWV	helix	ヘリックス構造
hetero	HETATM	hydrogen	水素	hydrophobic	AGILMFPWYV
ions	イオン金属	large	REQHILKMFWY	ligand	水でないhetero
medium	NDCPT	neutral	Charged以外	nucleic	核酸
polar	RNDCEQHKST	protein	蛋白質	purine	AかGの塩基
pyrimidine	CかTの塩基	sheet	シート構造	sidechain	側鎖の原子
small	Ala,Gly, Ser	solvent	waterカation	surface	RNDEAGHKPSTY
turn	ターン構造	water	水		

出典 : http://isw3.naist.jp/IS/Kawabata-lab/LECD0C_KINDAI/2010/exec_10May25/rasmol_man/rasmol_command.html

レポート提出用紙

学籍番号：

氏名：

レポート提出用紙

学籍番号：

氏名：

