

平成26年4月28日

構造バイオインフォマティクス基礎

# 立体構造からの情報抽出

東京大学大学院農学生命科学研究科

アグリバイオインフォマティクス

教育研究ユニット

寺田 透

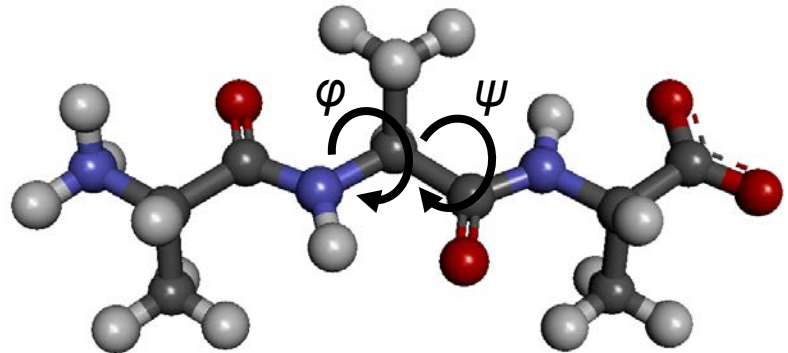
# 本日の講義内容

---

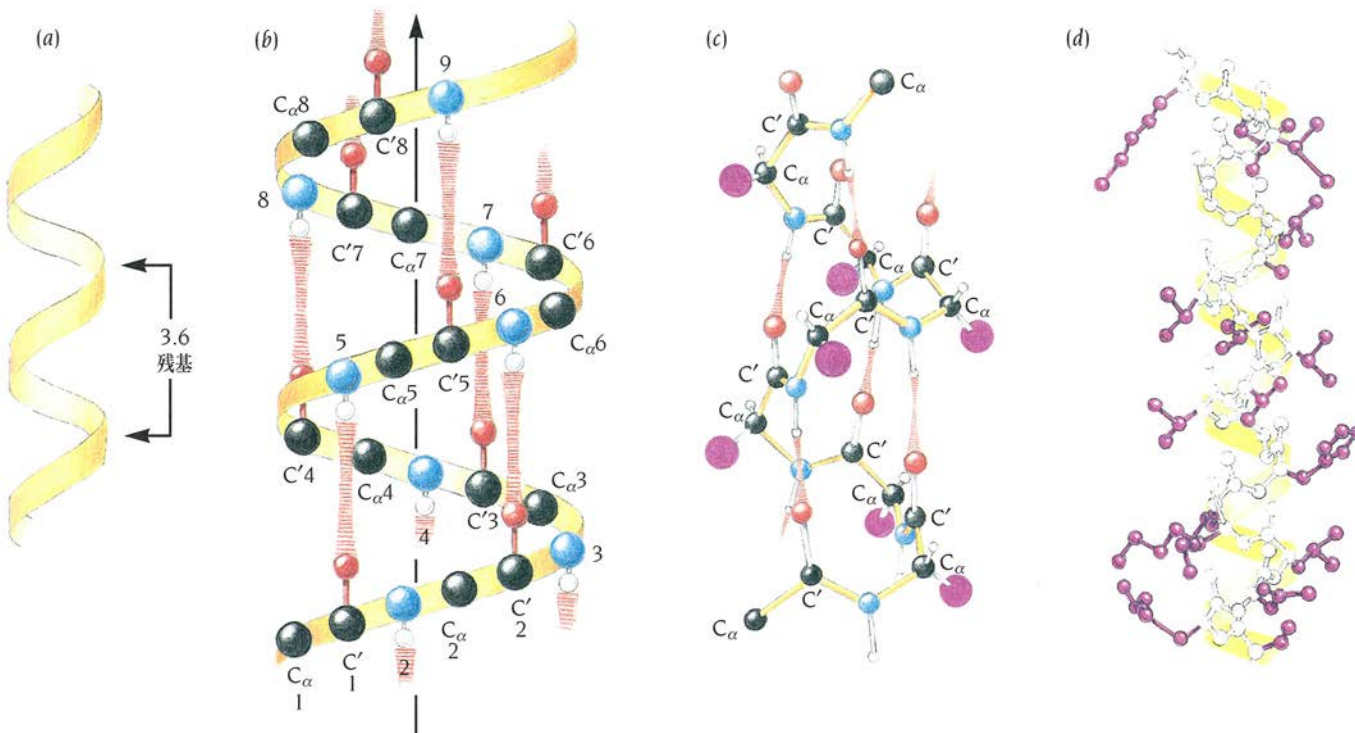
- 2次構造形成傾向
  - 実習課題1
- 3D profile法
- 立体構造比較
- 立体構造類似性と機能・進化
- 立体構造分類データベース
  - 実習課題2
- 配列類似性と立体構造類似性

# 2次構造

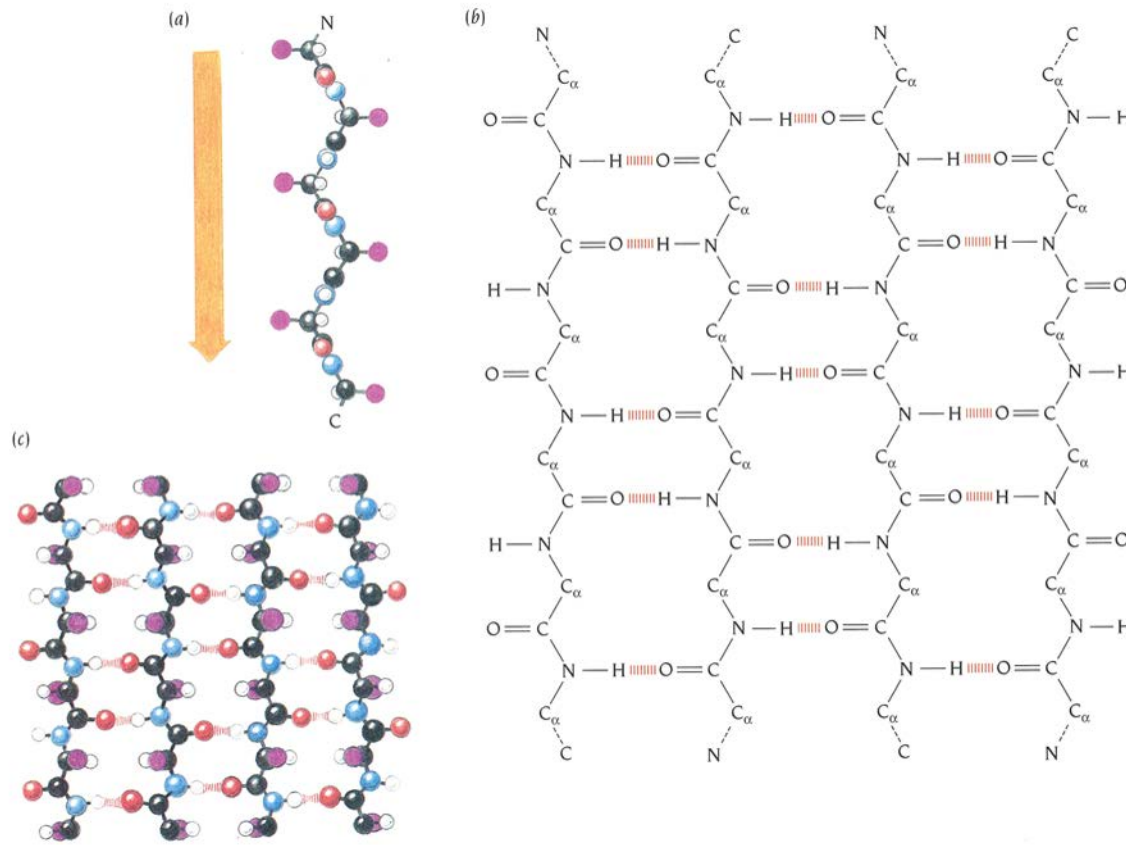
- $\alpha$  helix
  - 残基  $i$  の C=O と残基  $i+4$  の N-H が水素結合を形成
  - 主鎖の二面角 ( $\varphi, \psi$ )  $\approx (-60^\circ, -60^\circ)$
- $\beta$  sheet
  - 隣り合う  $\beta$  strand との間で水素結合を形成
  - 主鎖の二面角 ( $\varphi, \psi$ )  $\approx (-120^\circ, 120^\circ)$
  - 平行と逆平行がある



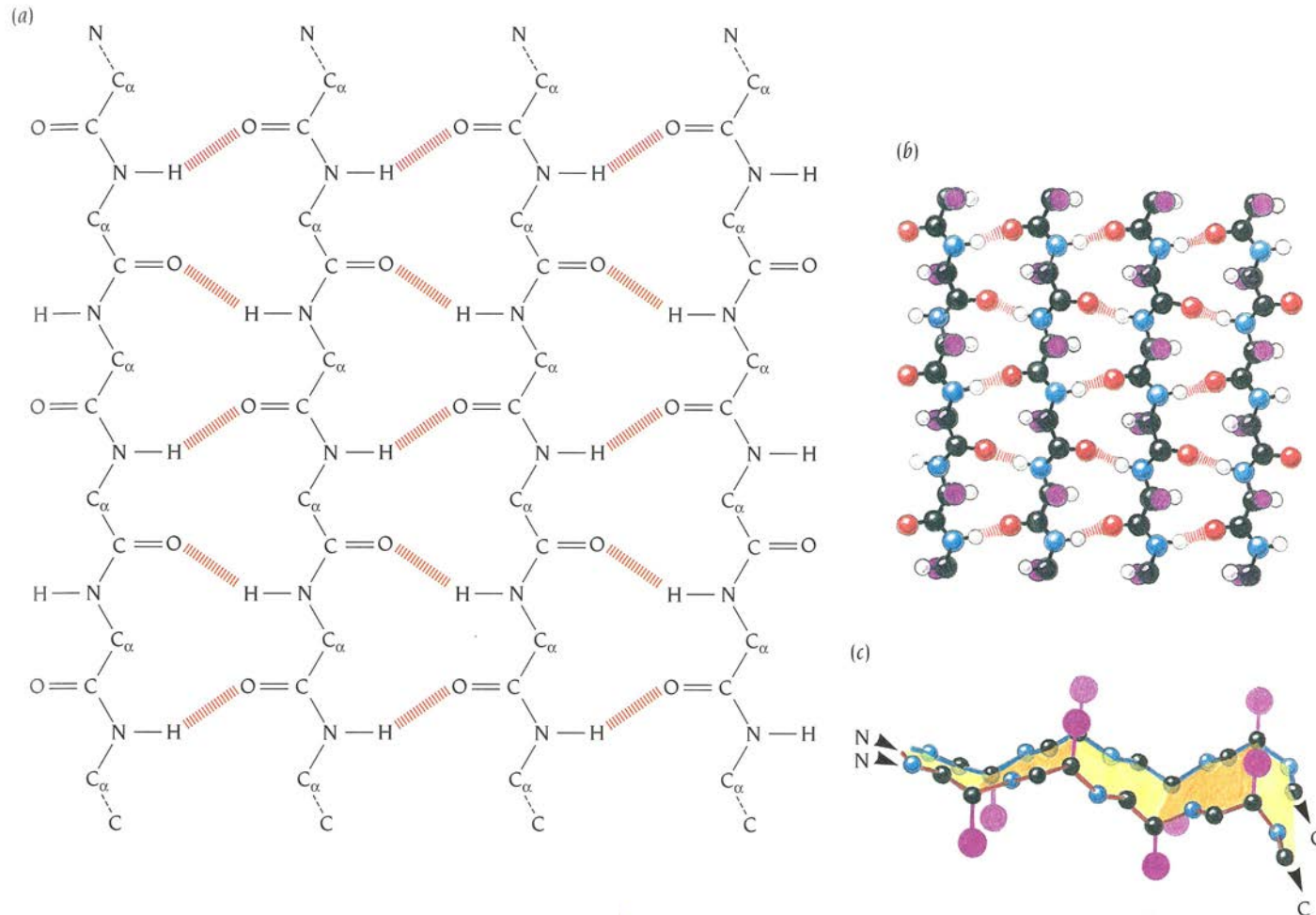
# $\alpha$ helix



# 逆平行 $\beta$ sheet

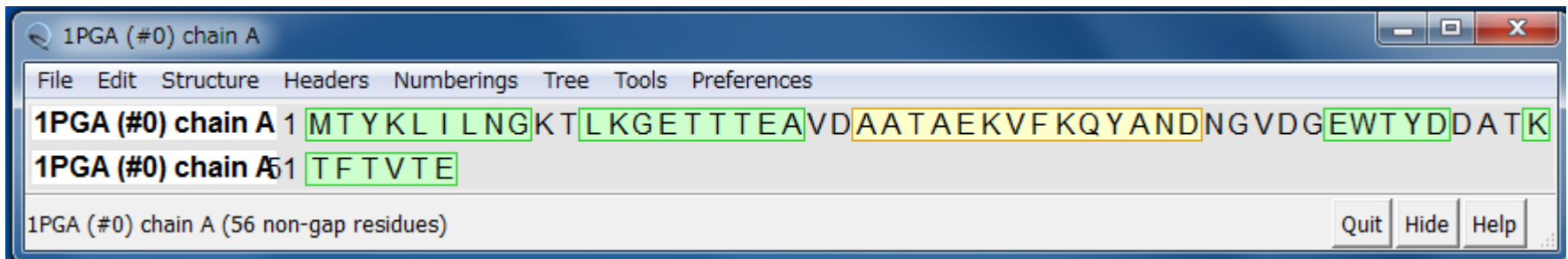


# 平行 $\beta$ sheet



# 2次構造の確認(1)

1. Chimeraで1PGAを開く
  - $\alpha$  helix、 $\beta$  sheet(並行および逆並行)を確認
2. メニューの「Tools」→「Sequence」→「Sequence」  
→ $\alpha$  helixが黄色、 $\beta$  strandが緑色



# 2次構造の確認(2)

1. RCSBのサイトで1PGAを表示する
2. Sequenceタブを開く
3. 以下のようにAuthor Sec. Struc.を選択

The image shows a screenshot of the RCSB PDB website interface. On the left, under the 'Annotations' section, the 'Author Sec. Struc.' option is selected in a dropdown menu. The main area displays the protein sequence 'ANDNGVDGEWYDDATKTFVTE' with various annotations. A green bar at the top indicates the SCOP domain: 'Immunoglobulin-binding protein G, different constituent...'. Below this, the DSSP secondary structure is shown with yellow arrows for beta-strands and a red wavy line for the alpha-helix. The 'Author Sec. Struc.' annotation shows a similar representation but with a different secondary structure prediction. The PDB ID '1PGA' and residue numbers '1' to '56' are also visible.

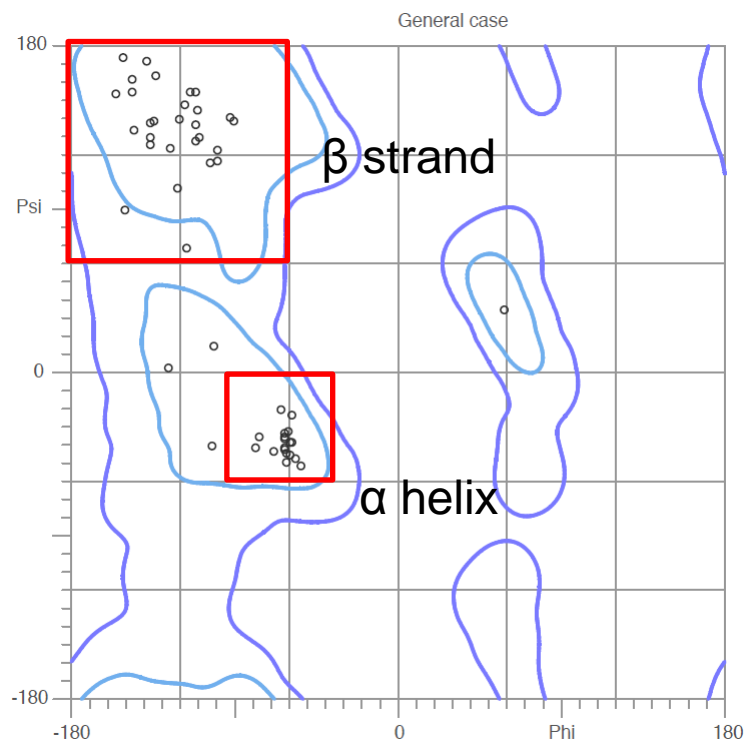


# Ramachandran plot

- Geometryタブを開き以下をクリック

MolProbity Ramachandran Plot

[Click here to download the MolProbity Ramachandran Plot.](#)



# 2次構造データの由来

- PDBのヘッダから

- 立体構造を決定した人が記述

HELIX	1	1	ALA	A	23	ASP	A	36	1	
SHEET	1	S1	4	LEU	A	12	ALA	A	20	0
SHEET	2	S1	4	MET	A	1	GLY	A	9	-1
SHEET	3	S1	4	LYS	A	50	GLU	A	56	1
SHEET	4	S1	4	GLU	A	42	ASP	A	46	-1

- 立体構造から

- 立体構造の特徴(水素結合ネットワークや主鎖の二面角)から判定する

# DSSP

- 立体構造に基づいて2次構造を判定するソフトウェア
  - 水素結合ネットワークに基づいて判定
  - DSSPの出力 (H:  $\alpha$  helix; E:  $\beta$  strand)

#	RESIDUE	AA	STRUCTURE	BP1	BP2	ACC	N-H-->O	O-->H-N	N-H-->O	O-->H-N	TCO	KAPPA	ALPHA	PHI	PSI	
1	1	A	M		0	0	116	0, 0.0	19, -2.8	0, 0.0	2, -0.5	0.000	360.0	360.0	360.0	151.3
2	2	A	T	E	-A	19	0A	91	17, -0.2	2, -0.3	19, -0.1	17, -0.2	-0.900	360.0-168.8-101.0	123.5	
3	3	A	Y	E	-A	18	0A	5	15, -2.8	15, -2.8	-2, -0.5	2, -0.3	-0.774	9.0-143.9-112.6	155.1	
4	4	A	K	E	-Ab	17	51A	64	46, -1.7	48, -2.7	-2, -0.3	2, -0.5	-0.882	3.2-156.2-118.4	148.5	
5	5	A	L	E	-Ab	16	52A	0	11, -3.4	11, -1.9	-2, -0.3	2, -0.6	-0.995	1.8-161.2-126.9	124.5	
6	6	A	I	E	-Ab	15	53A	60	46, -2.8	48, -2.5	-2, -0.5	2, -0.6	-0.954	13.6-159.1-104.6	116.9	
7	7	A	L	E	+Ab	14	54A	6	7, -2.2	7, -1.8	-2, -0.6	2, -0.4	-0.907	18.6 174.1-100.8	117.1	
8	8	A	N	E	+Ab	13	55A	75	46, -3.1	48, -2.4	-2, -0.6	5, -0.2	-0.695	26.5 149.4-117.6	69.5	
(中略)																
23	23	A	A	H	> S+	0	0	25	-2, -0.3	4, -2.9	1, -0.2	5, -0.2	0.805	117.0 60.8 -63.5	-35.1	
24	24	A	A	H	> S+	0	0	49	1, -0.2	4, -1.0	2, -0.2	-1, -0.2	0.859	109.0 44.1 -63.5	-33.4	
25	25	A	T	H	> S+	0	0	60	-3, -0.5	4, -1.9	2, -0.2	3, -0.3	0.918	112.7 49.9 -79.2	-41.4	
26	26	A	A	H	X S+	0	0	0	-4, -1.9	4, -2.8	1, -0.2	5, -0.3	0.912	107.5 57.1 -63.5	-36.6	
27	27	A	E	H	X S+	0	0	61	-4, -2.9	4, -1.9	1, -0.2	-1, -0.2	0.855	107.8 46.7 -59.9	-38.3	

# 参考 : DSSPの実行

- dssp-2.0.4-win32.exeをダウンロードし、デスクトップに保存
  - スタートメニューから「すべてのプログラム」→「アクセサリ」→「コマンドプロンプト」を起動
  - 以下を実行
- ```
C:¥Users¥iu>cd Desktop  
C:¥Users¥iu¥Desktop>dssp-2.0.4-win32.exe 1PGA.pdb > 1PGA.txt
```
- 生成された1PGA.txtをダブルクリックして開く

# 2次構造形成傾向(1)

- アミノ酸によってとりやすい2次構造があるかどうか調べる
- 右図は15個のタンパク質について、 $\alpha$  helix、 $\beta$  sheet、coilに含まれるアミノ酸をカウントしたものの\*

|     | $\alpha$ helix | $\beta$ sheet | Coil | Total |
|-----|----------------|---------------|------|-------|
| Ala | 119            | 38            | 71   | 228   |
| Arg | 22             | 12            | 44   | 78    |
| Asn | 35             | 15            | 83   | 133   |
| Asp | 39             | 15            | 57   | 111   |
| Cys | 15             | 12            | 27   | 54    |
| Gln | 40             | 20            | 35   | 95    |
| Glu | 62             | 5             | 46   | 113   |
| Gly | 45             | 32            | 155  | 232   |
| His | 33             | 9             | 32   | 74    |
| Ile | 38             | 29            | 39   | 106   |
| Leu | 94             | 41            | 61   | 196   |
| Lys | 67             | 22            | 86   | 175   |
| Met | 12             | 8             | 8    | 28    |
| Phe | 33             | 18            | 31   | 82    |
| Pro | 18             | 9             | 58   | 85    |
| Ser | 57             | 25            | 120  | 202   |
| Thr | 47             | 32            | 77   | 156   |
| Trp | 18             | 9             | 17   | 44    |
| Tyr | 22             | 22            | 56   | 100   |
| Val | 74             | 51            | 56   | 181   |
|     | 890            | 424           | 1159 | 2473  |

\*Chou & Fasman, *Biochemistry* **13**, 211 (1974).

# 2次構造形成傾向(2)

- アミノ酸ごとに、2次構造の割合を求める
  - どのアミノ酸もβ sheetを作りにくい？
- 2次構造ごとに存在確率が異なる

|     | α helix | β sheet | Coil  | Total |
|-----|---------|---------|-------|-------|
| Ala | 0.522   | 0.167   | 0.311 | 1.000 |
| Arg | 0.282   | 0.154   | 0.564 | 1.000 |
| Asn | 0.263   | 0.113   | 0.624 | 1.000 |
| Asp | 0.351   | 0.135   | 0.514 | 1.000 |
| Cys | 0.278   | 0.222   | 0.500 | 1.000 |
| Gln | 0.421   | 0.211   | 0.368 | 1.000 |
| Glu | 0.549   | 0.044   | 0.407 | 1.000 |
| Gly | 0.194   | 0.138   | 0.668 | 1.000 |
| His | 0.446   | 0.122   | 0.432 | 1.000 |
| Ile | 0.358   | 0.274   | 0.368 | 1.000 |
| Leu | 0.480   | 0.209   | 0.311 | 1.000 |
| Lys | 0.383   | 0.126   | 0.491 | 1.000 |
| Met | 0.429   | 0.286   | 0.286 | 1.000 |
| Phe | 0.402   | 0.220   | 0.378 | 1.000 |
| Pro | 0.212   | 0.106   | 0.682 | 1.000 |
| Ser | 0.282   | 0.124   | 0.594 | 1.000 |
| Thr | 0.301   | 0.205   | 0.494 | 1.000 |
| Trp | 0.409   | 0.205   | 0.386 | 1.000 |
| Tyr | 0.220   | 0.220   | 0.560 | 1.000 |
| Val | 0.409   | 0.282   | 0.309 | 1.000 |
|     | 0.360   | 0.171   | 0.469 | 1.000 |

$$p(s|a) = \frac{n(s,a)}{n(a)}$$

# 2次構造形成傾向(2)

- アミノ酸ごとに、2次構造の割合を求める
  - どのアミノ酸も $\beta$  sheetを作りにくい？
- 2次構造ごとに存在確率が異なる



- 2次構造の存在割合で割ればよい

|     | $\alpha$ helix | $\beta$ sheet | Coil | Total |
|-----|----------------|---------------|------|-------|
| Ala | 1.45           | 0.97          | 0.66 | 1.00  |
| Arg | 0.78           | 0.90          | 1.20 | 1.00  |
| Asn | 0.73           | 0.66          | 1.33 | 1.00  |
| Asp | 0.98           | 0.79          | 1.10 | 1.00  |
| Cys | 0.77           | 1.30          | 1.07 | 1.00  |
| Gln | 1.17           | 1.23          | 0.79 | 1.00  |
| Glu | 1.52           | 0.26          | 0.87 | 1.00  |
| Gly | 0.54           | 0.80          | 1.43 | 1.00  |
| His | 1.24           | 0.71          | 0.92 | 1.00  |
| Ile | 1.00           | 1.60          | 0.79 | 1.00  |
| Leu | 1.33           | 1.22          | 0.66 | 1.00  |
| Lys | 1.06           | 0.73          | 1.05 | 1.00  |
| Met | 1.19           | 1.67          | 0.61 | 1.00  |
| Phe | 1.12           | 1.28          | 0.81 | 1.00  |
| Pro | 0.59           | 0.62          | 1.46 | 1.00  |
| Ser | 0.78           | 0.72          | 1.27 | 1.00  |
| Thr | 0.84           | 1.20          | 1.05 | 1.00  |
| Trp | 1.14           | 1.19          | 0.82 | 1.00  |
| Tyr | 0.61           | 1.28          | 1.19 | 1.00  |
| Val | 1.14           | 1.64          | 0.66 | 1.00  |
|     | 1.00           | 1.00          | 1.00 | 1.00  |

# 2次構造形成傾向(3)

- アミノ酸の2次構造形成傾向

$$P_{s,a} = \frac{p(s|a)}{p(s)}$$

$p(s|a)$ : アミノ酸 $a$ における2次構造 $s$ の出現確率

$p(s)$ : 2次構造 $s$ の平均出現確率

$P_{s,a}$ : アミノ酸 $a$ が2次構造 $s$ をとる確率は、平均と比べてどのくらい高いか

→アミノ酸 $a$ の2次構造 $s$ 形成傾向

- 配列の場合

$$p(s_1s_2|a_1a_2) = p(s_1|a_1)p(s_2|s_1a_1a_2) \\ \approx p(s_1|a_1)p(s_2|a_2)$$

位置2における2次構造の出現確率は位置1の2次構造やアミノ酸によらないと仮定

$$P_{s_1 \cdots s_N, a_1 \cdots a_N} = \prod_{i=1}^N \frac{p(s_i|a_i)}{p(s_i)}$$



# 2次構造形成傾向(4)

- 1PGAの23–36残基(AATAEKVFKQYAND)の2次構造形成傾向

|                | Ala  | Ala  | Thr  | Ala  | Glu  | Lys  | Val  | Phe  | Lys  | Gln  | Tyr  | Ala  | Asn  | Asp  | Product |
|----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|---------|
| $\alpha$ helix | 1.45 | 1.45 | 0.84 | 1.45 | 1.52 | 1.06 | 1.14 | 1.12 | 1.06 | 1.17 | 0.61 | 1.45 | 0.73 | 0.98 | 4.14435 |
| $\beta$ sheet  | 0.97 | 0.97 | 1.20 | 0.97 | 0.26 | 0.73 | 1.64 | 1.28 | 0.73 | 1.23 | 1.28 | 0.97 | 0.66 | 0.79 | 0.25479 |
| Coil           | 0.66 | 0.66 | 1.05 | 0.66 | 0.87 | 1.05 | 0.66 | 0.81 | 1.05 | 0.79 | 1.19 | 0.66 | 1.33 | 1.10 | 0.14309 |

- アミノ酸ごとにみると、 $\alpha$  helixより他の2次構造をとりやすいものもある
- $P_{s,a}$ の積の値は $\alpha$  helixのものが一番大きい
- この配列は $\alpha$  helixをとりやすいことがわかる

# 2次構造形成傾向(5)

- 2次構造が与えられた時に、どのアミノ酸が適しているかを表す指標としても利用できる

$$\frac{p(s|a)}{p(s)} = \frac{p(s,a)}{p(s)p(a)} = \frac{p(a|s)}{p(a)} \quad \because p(s,a) = p(s|a)p(a)$$

- 1PGAの1-14残基 (MTYKLILNGKTLKG)

|                | Met  | Thr  | Tyr  | Lys  | Leu  | Ile  | Leu  | Asn  | Gly  | Lys  | Thr  | Leu  | Lys  | Gly  | Product |
|----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|---------|
| $\alpha$ helix | 1.19 | 0.84 | 0.61 | 1.06 | 1.33 | 1.00 | 1.33 | 0.73 | 0.54 | 1.06 | 0.84 | 1.33 | 1.06 | 0.54 | 0.30757 |
| $\beta$ sheet  | 1.67 | 1.20 | 1.28 | 0.73 | 1.22 | 1.60 | 1.22 | 0.66 | 0.80 | 0.73 | 1.20 | 1.22 | 0.73 | 0.80 | 1.48872 |
| Coil           | 0.61 | 1.05 | 1.19 | 1.05 | 0.66 | 0.79 | 0.66 | 1.33 | 1.43 | 1.05 | 1.05 | 0.66 | 1.05 | 1.43 | 0.57956 |

- $\alpha$  helixには、1-14残基 (0.31) より、23-36残基 (4.14) の配列が適していることがわかる

# データの更新

- ChouとFasmanのデータは非常に古いので、現在のPDBを用いてデータを更新する
- 立体構造データの偏りに注意
  - 例えばhen egg lysozyme (PDB ID: 3AW6など)と100%配列が一致するエントリは417ある
- 類似した配列を除いたデータベースを使う
  - ここではPISCES\*から冗長性を除いたPDBのリストを取得
- 2次構造はDSSPを用いて決定
  - 著者が決めたものより客観性がある

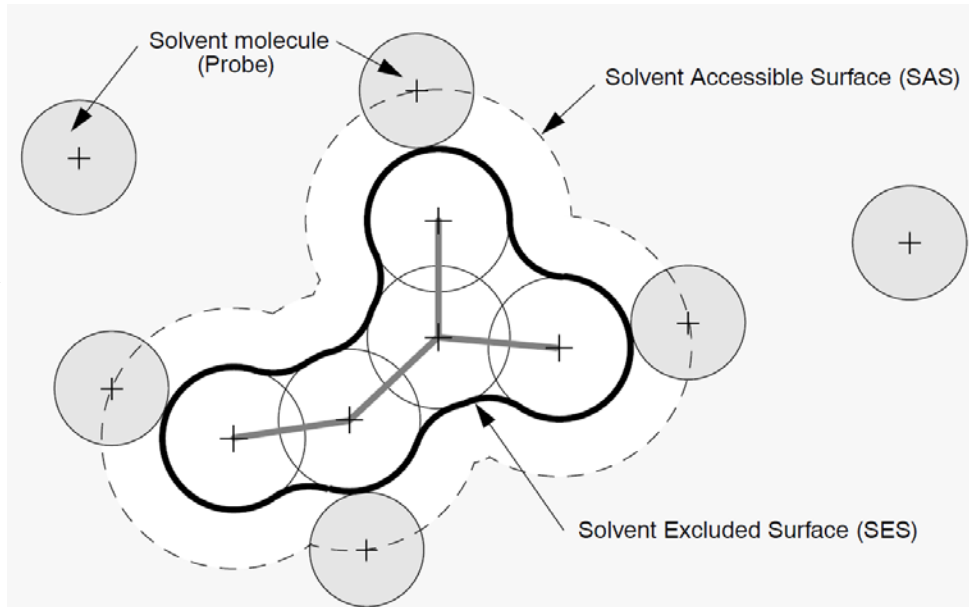
\*<http://dunbrack.fccc.edu/PISCES.php>

# 実習課題1

1. 講義のページからダウンロードした new\_data.xls を利用して、アミノ酸の2次構造形成傾向  $P_{s,a}$  を計算せよ
2.  $\alpha$  helix、 $\beta$  sheet、coil それぞれについて、2次構造形成をしやすくすると考えられるアミノ酸、2次構造形成をしにくくすると考えられるアミノ酸をそれぞれ2つずつ挙げよ
3. データを更新することによって結果がどのように変わったか考察せよ

# 溶媒露出表面積

- 分子に接触するように転がしたプローブ球の中心の軌跡→溶媒露出表面
- DSSPのACCカラムの値は溶媒露出表面積に相当
- アミノ酸の大きさによって表面積が異なるので、Ala-X-Ala(またはGly-X-Gly)ペプチドにおけるそのアミノ酸の溶媒露出表面積で割った、溶媒露出度も指標として良く用いられる



Sanner *et al.* *Biopolymers* **38**, 305 (1993)から引用

# 溶媒露出度の比較

- 冗長性を除いたPDBのリストのうち、単量体で存在するものを選び、各アミノ酸の溶媒露出度を計算
- アミノ酸の種類ごとに平均溶媒露出度を計算
- 親水性アミノ酸の溶媒露出度が大きく、疎水性アミノ酸の溶媒露出度が小さいことがわかる

|     | 溶媒露出度 |
|-----|-------|
| Ala | 0.21  |
| Arg | 0.39  |
| Asn | 0.38  |
| Asp | 0.43  |
| Cys | 0.10  |
| Gln | 0.41  |
| Glu | 0.44  |
| Gly | 0.33  |
| His | 0.28  |
| Ile | 0.11  |
| Leu | 0.13  |
| Lys | 0.48  |
| Met | 0.17  |
| Phe | 0.12  |
| Pro | 0.34  |
| Ser | 0.34  |
| Thr | 0.30  |
| Trp | 0.14  |
| Tyr | 0.17  |
| Val | 0.13  |

# 3D profile法

---

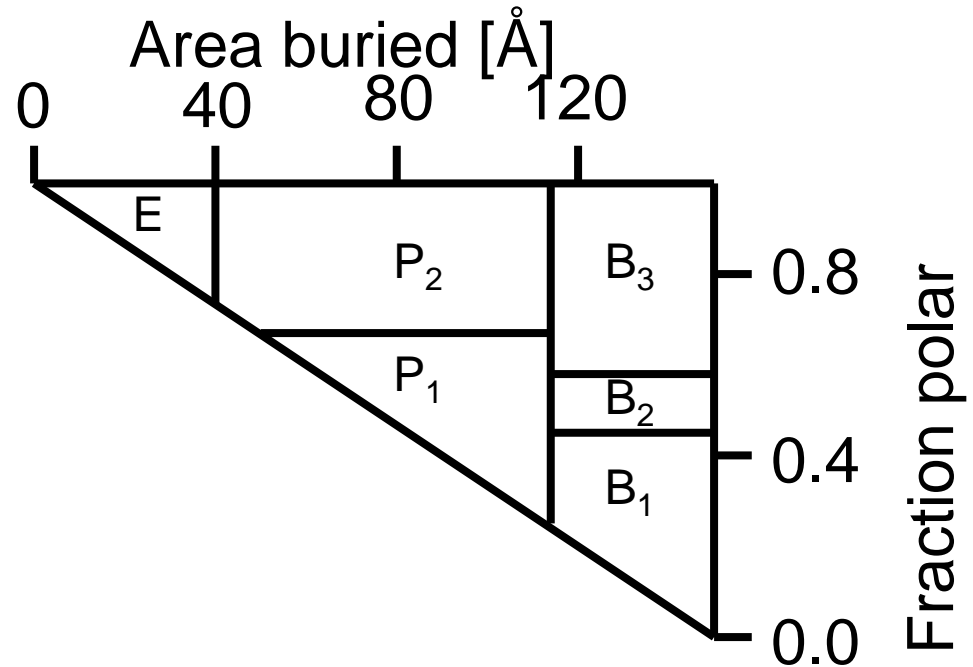
- アミノ酸によって、それが好む「環境」(2次構造や溶媒露出度)が異なる
- 「環境」は立体構造から求めることができる



- 立体構造から、適合するアミノ酸配列を推定する→逆フォールディング問題

# Bowieらの方法(1)

- 各残基の溶媒露出表面積を計算し、Gly-X-Glyペプチドの溶媒露出表面積との差をArea buriedとする
- 各残基の表面のうち、極性原子(溶媒を含む)に覆われている割合をFraction polarとする
- これに主鎖構造( $\alpha$ 、 $\beta$ 、その他)を加えて18種類の環境を定義





# Bowieらの方法(2)

1. 1次配列に沿って各ポジションの「環境」を求める
  - 例: E B<sub>2</sub> Eα P<sub>2</sub>α Eα P<sub>2</sub>α B<sub>2</sub>α Eα P<sub>2</sub>α B<sub>1</sub>α
2. 「環境」が与えられた時、その環境(env)におけるアミノ酸配列(seq)の出現確率、 $p(\text{seq}|\text{env})$ を求める
  - 1次配列の各ポジションは独立と考え、各ポジションの環境におけるアミノ酸の出現確率の積で近似する
3. アミノ酸配列の平均出現確率との比を求める

$$\frac{p(\text{seq}|\text{env})}{p(\text{seq})} \approx \frac{\prod_{i=1}^N p(a_i|\text{env}_i)}{\prod_{i=1}^N p(a_i)} = \prod_{i=1}^N \frac{p(a_i|\text{env}_i)}{p(a_i)}$$

# Bowieらの方法(3)

- 立体構造データベース中のタンパク質について、アミノ酸  $a$  の環境  $env$  における出現確率を計算

$$3D-1D \text{ score} = \ln \left[ \frac{p(a|env)}{p(a)} \right]$$

logをとることで積を和で計算する

| Environment class | W     | F     | Y     | L     | I     | V     | M     | A     | G     | P     | C     | T     | S     | Q     | N     | E     | D     | H     | K     | R     |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| B <sub>1</sub> α  | 1.00  | 1.32  | 0.18  | 1.27  | 1.17  | 0.66  | 1.26  | -0.66 | -2.53 | -1.16 | -0.73 | -1.29 | -2.73 | -1.08 | -1.93 | -1.74 | -1.97 | -0.34 | -1.82 | -1.67 |
| B <sub>1</sub> β  | 1.17  | 0.85  | 0.07  | 1.13  | 1.47  | 1.09  | 0.55  | -0.79 | -2.02 | -0.94 | -0.22 | -1.12 | -2.91 | -1.67 | -1.42 | -1.93 | -2.56 | -1.91 | -2.69 | -1.16 |
| B <sub>1</sub>    | 1.05  | 1.45  | 0.17  | 1.10  | 1.11  | 1.02  | 0.98  | -0.91 | -1.92 | 0.26  | -1.22 | -1.53 | -2.81 | -1.17 | -2.42 | -2.52 | -1.76 | -1.12 | -2.59 | -2.16 |
| B <sub>2</sub> α  | 0.50  | 0.90  | 0.85  | 1.01  | 0.63  | 0.68  | 1.12  | -0.69 | -1.49 | -2.21 | -0.10 | -1.50 | -1.47 | -0.23 | -0.81 | -0.71 | -1.62 | 0.23  | -0.78 | 0.06  |
| B <sub>2</sub> β  | 0.01  | 1.18  | 1.06  | 0.76  | 1.31  | 1.06  | 0.64  | -1.55 | -2.26 | -0.49 | -0.87 | -2.27 | -1.77 | -1.22 | -2.07 | -1.07 | -1.41 | -0.77 | -1.14 | -0.20 |
| B <sub>2</sub>    | 1.02  | 1.05  | 1.12  | 0.84  | 0.81  | 0.60  | 0.90  | -0.66 | -1.66 | 0.19  | -0.05 | -0.76 | -1.17 | -0.76 | -0.66 | -1.35 | -1.28 | 0.46  | -2.34 | -0.80 |
| B <sub>3</sub> α  | 0.92  | -0.03 | 0.58  | 0.15  | 0.04  | -0.02 | 0.89  | -0.57 | -1.86 | -0.68 | -1.56 | -0.57 | -0.96 | 0.22  | -0.06 | 0.08  | -0.50 | 0.73  | 0.43  | 0.96  |
| B <sub>3</sub> β  | 0.75  | 0.81  | 1.30  | 0.18  | 0.54  | 0.56  | -0.57 | -0.93 | -1.93 | -0.34 | -0.54 | -0.44 | -0.74 | 0.21  | -0.24 | -0.14 | -0.86 | 0.82  | -0.53 | 0.13  |
| B <sub>3</sub>    | 1.07  | 0.70  | 1.13  | 0.35  | -0.17 | -0.03 | 0.23  | -0.96 | -0.98 | -0.13 | -1.20 | -0.53 | -0.54 | 0.05  | 0.04  | -0.36 | -1.05 | 1.01  | 0.10  | 0.66  |
| P <sub>1</sub> α  | -1.35 | -0.82 | -0.59 | -0.52 | -0.24 | 0.10  | -0.03 | 0.73  | -0.49 | -0.25 | 0.95  | 0.31  | 0.34  | -0.14 | -0.54 | -0.17 | -0.25 | -0.52 | -0.21 | -0.28 |
| P <sub>1</sub> β  | 0.36  | -0.49 | 0.17  | -1.03 | 0.20  | 0.46  | -0.27 | 0.64  | -0.82 | -0.55 | 1.49  | 0.93  | 0.33  | -2.27 | -1.32 | -0.73 | -1.07 | -0.42 | -1.21 | -0.77 |
| P <sub>1</sub>    | -1.26 | -1.20 | -1.31 | -0.62 | -0.23 | -0.01 | -1.19 | 0.46  | -0.24 | 0.66  | 1.35  | 0.56  | 0.49  | -0.63 | -0.13 | -0.61 | 0.38  | -1.12 | -0.74 | -1.29 |
| P <sub>2</sub> α  | -1.14 | -1.43 | -0.79 | -0.35 | -0.54 | -0.48 | -0.45 | 0.06  | -0.50 | -0.26 | -0.93 | -0.05 | -0.18 | 0.55  | -0.05 | 0.56  | 0.28  | 0.06  | 0.61  | 0.50  |
| P <sub>2</sub> β  | -0.79 | -0.54 | -0.84 | -1.30 | -0.33 | 0.13  | -0.72 | -0.55 | -0.98 | -1.29 | -0.57 | 0.84  | 0.59  | -0.08 | -0.16 | 0.32  | 0.19  | -0.87 | 0.59  | 0.10  |
| P <sub>2</sub>    | -0.82 | -0.86 | -0.51 | -0.70 | -1.09 | -0.88 | -0.89 | -0.15 | -0.40 | 0.44  | -0.60 | 0.06  | 0.26  | 0.27  | 0.50  | 0.27  | 0.49  | 0.13  | 0.44  | 0.30  |
| E α               | -1.35 | -2.20 | -2.10 | -1.58 | -2.76 | -1.10 | -0.72 | 0.46  | 0.68  | 0.04  | -0.44 | -0.17 | 0.15  | 0.36  | 0.28  | 0.59  | 0.44  | -0.19 | 0.13  | -0.34 |
| E β               | 0.64  | -0.90 | 0.30  | -1.66 | -1.47 | -1.74 | -0.68 | 0.06  | 1.46  | -0.96 | -0.24 | 0.14  | 0.65  | -0.19 | -0.06 | -0.16 | -0.78 | -0.83 | -0.52 | -0.49 |
| E                 | -2.14 | -1.90 | -0.94 | -1.19 | -1.61 | -0.91 | -1.67 | 0.12  | 1.13  | 0.20  | -0.46 | 0.12  | 0.32  | -0.03 | 0.41  | 0.03  | 0.22  | -0.25 | -0.14 | -0.32 |

# Bowieらの方法(4)

- 3D-1D scoreを用いて、与えられた配列について、その配列の出現確率を計算できる
- 3D-1D scoreを位置特異的スコア行列(3D profileと呼ぶ)とみなすことで、最も大きい出現確率を与えるアラインメントを求めることができる

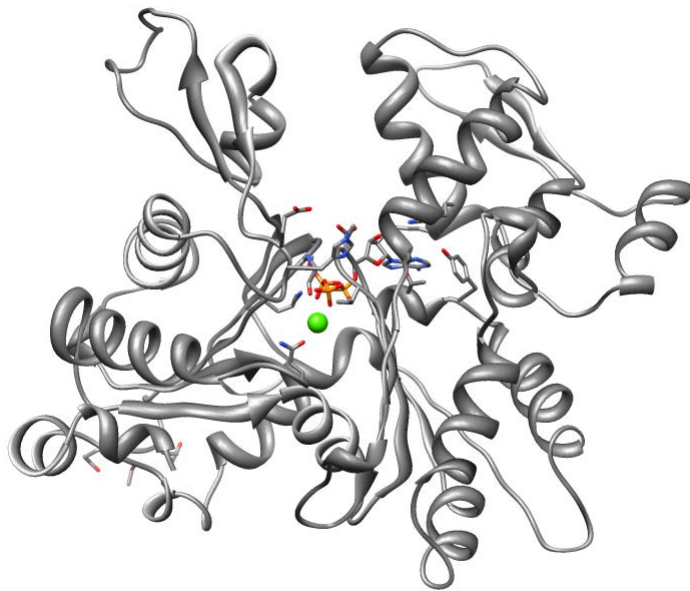
| Position<br>in fold | Environment<br>class | Amino acid type |     |      |      |      |      |     |      |      |      |      |      |      | Gap<br>penalty |      |
|---------------------|----------------------|-----------------|-----|------|------|------|------|-----|------|------|------|------|------|------|----------------|------|
|                     |                      | A               | C   | D    | E    | F    | G    | ... | R    | S    | T    | V    | W    | Y    | Opn            | Ext  |
| 1                   | E                    | 12              | -46 | 22   | 3    | -190 | 113  | ... | -32  | 32   | 12   | -91  | -214 | -94  | 2              | 0.02 |
| 2                   | B <sub>2</sub>       | -66             | -5  | -128 | -135 | 105  | -166 | ... | -80  | -117 | -76  | 60   | 102  | 112  | 2              | 0.02 |
| 3                   | E α                  | 46              | -44 | 44   | 59   | -220 | 68   | ... | -34  | 15   | -17  | -110 | -135 | -210 | 200            | 200  |
| 4                   | P <sub>2</sub> α     | 6               | -93 | 28   | 56   | -143 | -50  | ... | 50   | -18  | -5   | -48  | -114 | -79  | 200            | 200  |
| 5                   | E α                  | 46              | -44 | 44   | 59   | -220 | 68   | ... | -34  | 15   | -17  | -110 | -135 | -210 | 200            | 200  |
| 6                   | P <sub>2</sub> α     | 6               | -93 | 28   | 56   | -143 | -50  | ... | 50   | -18  | -5   | -48  | -114 | -79  | 200            | 200  |
| 7                   | B <sub>2</sub> α     | -69             | -10 | -162 | -71  | 90   | -149 | ... | 6    | -147 | -150 | 66   | 50   | 85   | 200            | 200  |
| 8                   | E α                  | 46              | -44 | 44   | 59   | -220 | 68   | ... | -34  | 15   | -17  | -110 | -135 | -210 | 200            | 200  |
| 9                   | P <sub>2</sub> α     | 6               | -93 | 28   | 56   | -143 | -50  | ... | 50   | -18  | -5   | -48  | -114 | -79  | 200            | 200  |
| 10                  | B <sub>1</sub> α     | -66             | -73 | -197 | -174 | 132  | -253 | ... | -167 | -273 | -129 | 66   | 100  | 18   | 200            | 200  |
| .                   | .                    | .               | .   | .    | .    | .    | .    | .   | .    | .    | .    | .    | .    | .    | .              | .    |
| .                   | .                    | .               | .   | .    | .    | .    | .    | .   | .    | .    | .    | .    | .    | .    | .              | .    |
| .                   | .                    | .               | .   | .    | .    | .    | .    | .   | .    | .    | .    | .    | .    | .    | .              | .    |

# 3D profile法の応用(1)

---

- 立体構造は配列より保存されやすいことを利用した、遠縁のホモログの検出
  - Actinとheat shock proteinは配列相同性はほとんどないが、立体構造は類似している
  - Actinの3D profileを用いると、actin自身の配列に次いでheat shock proteinが高いスコアを示す
- 様々な立体構造について3D profileを計算しておき、与えられた配列に適合する立体構造を探すこともできる→フォールド認識

# 3D profile法の応用(2)



Actin  
PDB ID: 1ATN  
(A鎖のみ)



Heat shock protein  
PDB ID: 3HSC

# 3D profile法の応用(3)

---

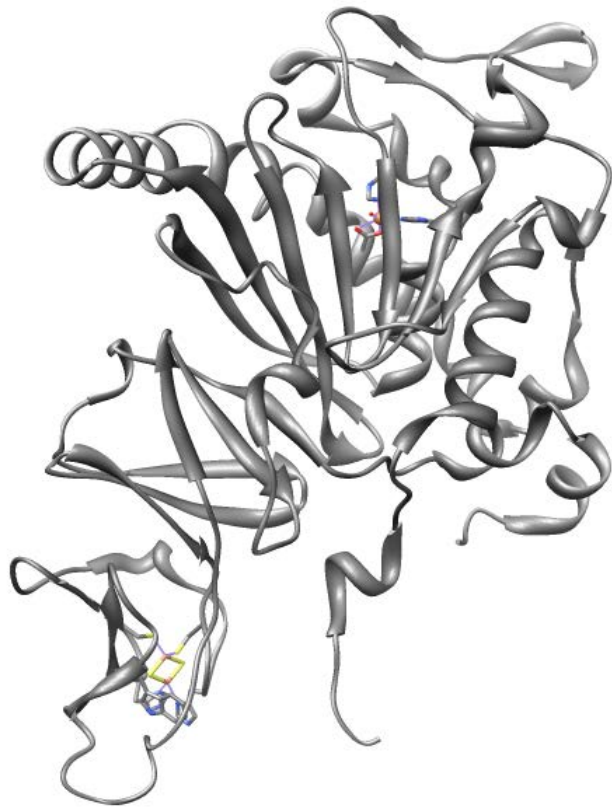
- 予測構造の評価
  - 予測に使用した配列と、予測構造の適合度を予測構造の精度の指標とする
  - 予測構造同士の精度の比較ができるほか、各ポジションにおける3D-1D scoreを用いて局所構造の精度を評価できる
  - Verify3D  
([http://nihserver.mbi.ucla.edu/Verify\\_3D/](http://nihserver.mbi.ucla.edu/Verify_3D/))

# 立体構造比較(1)

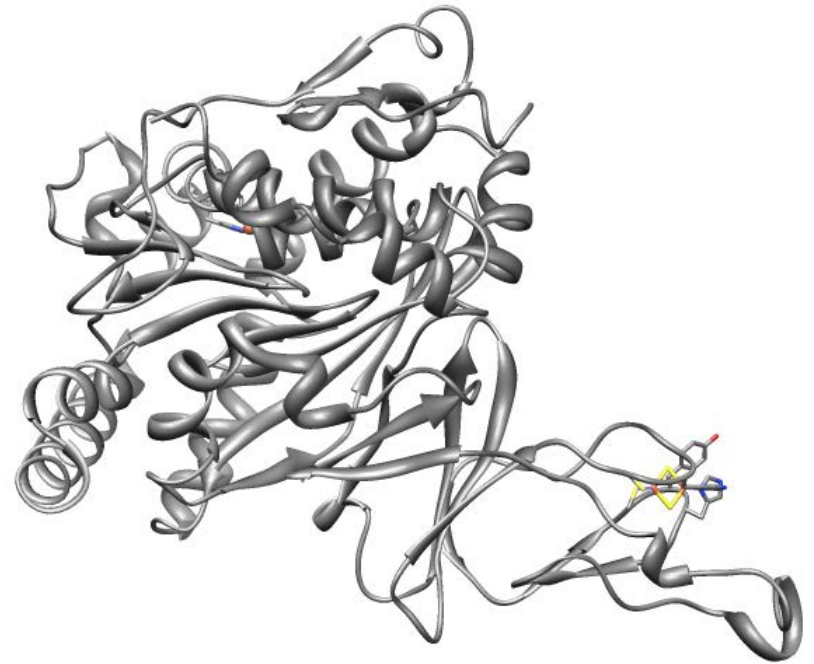
---

- 配列の場合
  - BLAST等で配列のアラインメント
  - 配列一致度、E-valueを指標に類似度を判断
- 立体構造の場合
  - 主鎖構造がどの程度似ているか
  - 一方の立体構造を並進・回転させ、もう一方とどの程度重なるかを調べる

# 立体構造比較(2)



PDB ID: 1WW9



PDB ID: 1NDO  
(A鎖のみ)



# 立体構造比較(3)

1. RCSBのホームページを開く
2. 左側のメニューのToolsにある「Compare Structure」をクリック
3. ID 1に「1WW9.A」、ID 2に「1NDO.A」  
Select Comparison Methodに「jCE algorithm」を設定し「Compare」

## RCSB PDB Protein Comparison Tool

Calculate pairwise sequence or structure alignments.

Compare the following two proteins ⓘ

ID 1:

ID 2:

Customize This Page

MyPDB Hide

Login to your Account  
Register a New Account

Home Hide

News & Publications  
Usage/Reference Policies  
Deposition Policies  
Website FAQ  
Deposition FAQ  
Contact Us  
About Us  
Careers  
External Links  
Sitemap  
New Website Features

Deposition Hide

All Deposit Services  
Electron Microscopy  
X-ray | NMR  
Validation Server  
BioSync Beamlines/Facilities  
Related Tools

Tools Hide

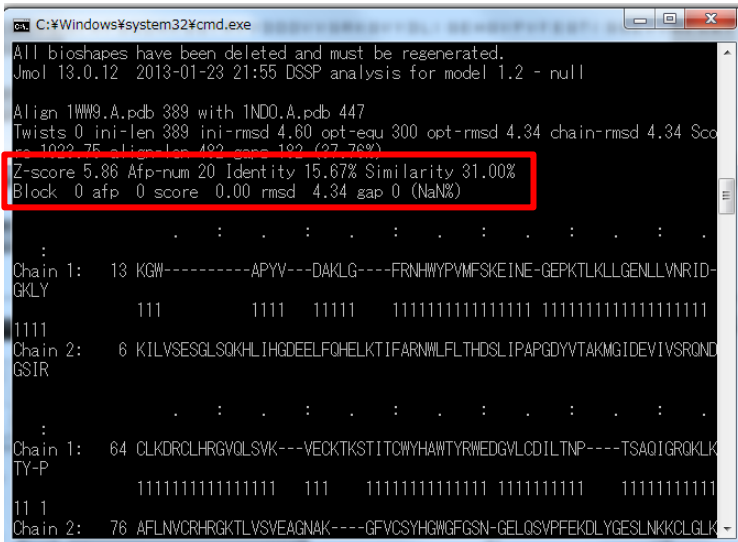
Download Files  
**Compare Structures**  
File Formats  
Services: RESTful | SOAP  
Widgets

# 立体構造比較(3)

- 本日はRCSBのサイト不調のため、以下のように操作してください
  1. 講義のページからprotein-comparison-tool\_20130412.zipをダウンロードし、デスクトップに保存
  2. このアイコンをダブルクリックして解凍
  3. 生成したフォルダにある、runCE.batを選択し、右クリックして「編集」を選択
  4. メモ帳が開くので、PDB1、PDB2変数を適切に変更し保存(次ページ参照)
  5. runCE.batをダブルクリックして起動

# 立体構造比較(3)

```
set PDB1="1WW9.A" ←ここを修正する
set PDB2="1NDO.A" ←ここを修正する
java -Xmx500M -cp "jars/*"
org.biojava.bio.structure.align.ce.CeMain
-pdb1 %PDB1% -pdb2 %PDB2%
-pdbFilePath . -autoFetch -show3d
```



```
C:\Windows\system32\cmd.exe
All bioshapes have been deleted and must be regenerated.
Jmol 13.0.12 2013-01-23 21:55 DSSP analysis for model 1.2 - null

Align 1WW9.A.pdb 389 with 1NDO.A.pdb 447
Twists 0 ini-len 389 ini-rmsd 4.60 opt-equ 300 opt-rmsd 4.34 chain-rmsd 4.34
Score 1022.75 Alignment 492 gaps 192 (27.78%)

Z-score 5.86 Afp-num 20 Identity 15.67% Similarity 31.00%
Block 0 afp 0 score 0.00 rmsd 4.34 gap 0 (NaN%)

:
:
Chain 1: 13 KGW-----APYV---DAKLG---FRNHWYPVMFSEINE-GEPKTLKLLGENLLVNRID-
GKLY
      111      1111 11111 111111111111111 1111111111111111111
1111
Chain 2:  6 KILVSESGLSQKHLIHGDEELFQHELKTI FARNWLF LTHDSLIPAGDYVTA KMGIDEVTVSROND
GSIR

:
:
Chain 1: 64 CLKRORCLRHRGVLQSVK---VECKTKSTITCWYHAWTYRWEDGVLCDILTNP---TSAQIGROKLLK
TY-P
      111111111111111111 111 111111111111111 11111111111 1111111111111
11 1
Chain 2: 76 AFLNVCRHRGKTLVSV EAGNAK---GFVCSYHGWFSGN-GELQSVPFKDL YGESLNK KCLGLK-
```

```
Z-score 5.86 Afp-num 20 Identity 15.67% Similarity 31.00%
Block 0 afp 0 score 0.00 rmsd 4.34 gap 0 (NaN%)
```

黒いウィンドウにZ-scoreやRMSDの値が表示されている

# 立体構造比較(4)

- 類似性の指標

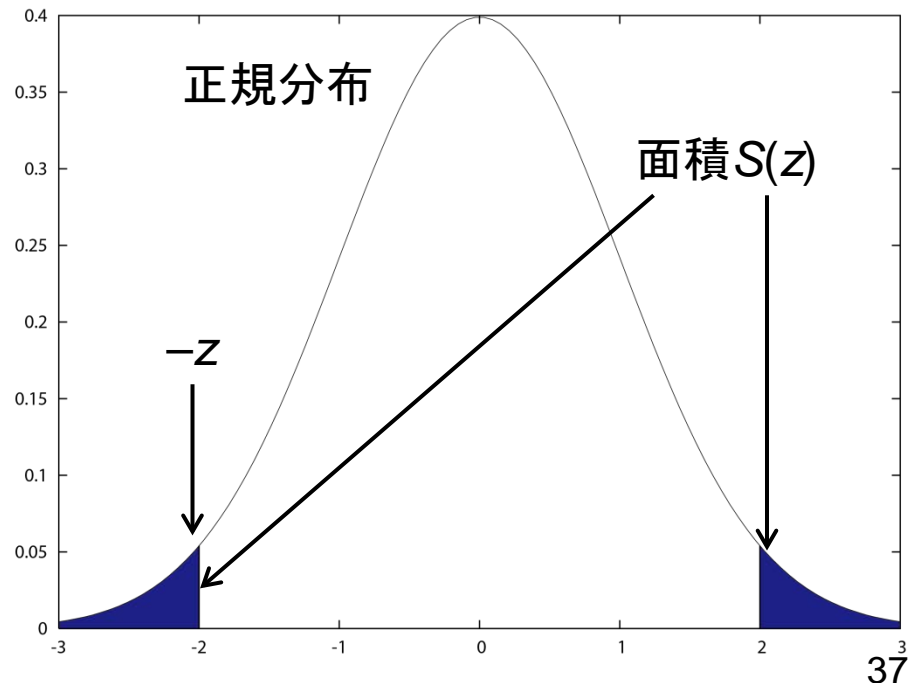
- Z-Score: 5.86 (この値が大きいほど偶然に類似する確率が低い)

|         |                                                                                                                                                                 |
|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| >4.5    | family level similarity                                                                                                                                         |
| 4.0-4.5 | superfamily level similarities, strong function related similarities or strong recurring fold                                                                   |
| 3.7-4.0 | twilight zone where some similarities of biological significance can be seen                                                                                    |
| <3.7    | similarities of low significance, but still some biologically important similarities can be revealed, but interpretation normally requires additional evidence. |

- RMSD: 4.34 Å (対応するCa原子間の平均距離)

# Z-scoreの意味

- タンパク質の立体構造をランダムに比較したときに、偶然に同程度以上類似した立体構造のペアが見つかる確率を $p$ とする
- $S(z) = p$ となる $z$ をZ-scoreとする
  - $S(3.7) = 2.2 \times 10^{-4}$
  - $S(4.0) = 6.3 \times 10^{-5}$
  - $S(4.5) = 6.6 \times 10^{-6}$



# 立体構造比較(5)

- Select Comparison Methodで「blast2seq」を選択すると、配列アラインメントが表示される

blast2seq

```
1WW9: 41 GEPKTLKLLGENLLVNRI-DGKLYCLKDRCLHRGVQLSVKVECKTKSTITCWYHAWTYRW 99
          G+ T K+ + ++V+R DG + + C HRG L V VE C YH W +
1NDO: 52 GDYVTAKMGIDEVIVSRQNDGSIRAFLNVCRRHGKTL-VSVEAGNAKGFVCSYHGWGF-- 108

1WW9: 100 EDGVLCDILTNP TSAQIGRQKL-----KTYPVQEAKGCVFIY-LGDGPPPL----- 145
          G ++ + P + + L + V+ G FIY D + PPL
1NDO: 109 --G SNGELQSVPF EKDL YGESLNKKCLGLKEVARVESFHG--FIYGC FDQEAPPLMDYLG 164

1WW9: 146 --ARDTPPNFL-DDDMEILGK--NQIIKSNWRLAVEN 177
          A P F +E++G +IK+NW+ EN
1NDO: 165 DAAWYLEPMPFKHSGGLELVGPPGKVVIKANWKAPAEN 201
```

CE(一部)

```
1WW9: 13 KGW-----APYV---DAKLG----FRNHWYPVMFSKEINE-GEPKTLKLLGENLLVNRIID-GKLY
          ||| |||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1NDO: 6 KILVSEGLSQKHLIHGDEELFQHELKTIFARNWLFLTHDSLIPAPGDYVTAKMGIDEVIVSRQNDGSIR

1WW9: 64 CLKDRCLHRGVQLSVK---VECKTKSTITCWYHAWTYRWEDGVLCDILTNP----TSAQIGRQKLKTY-P
          ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1NDO: 76 AFLNVCRRHGKTLVSVEAGNAK----GFVCSYHGWGF GSN-GELQSVPF EKDL YGESLNKKCLGLKEVAR

1WW9: 126 VQEAKGCVFIYLVGDGPPPLARDT--PPNFLD---DDMEILGK---NQIIKS--NWRLAVENG-FDPSHI
          ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1NDO: 141 VESFHGFIYGC-FDQEAPPLMDYLGDAAWYLEPMPFKHSGGLELVGPPGKVVIKANWKAPAENFVGDAYHV
```

# 参考: PSI-BLASTの場合

1NDOのA鎖の配列をクエリとしてnrに対してPSI-BLASTを実行(3回繰り返し)

```
1WW9: 25  FRNHWYPVMFSKEI-NEGEPKTLKLLGENLLVNR-IDGKLYCLKDRCLHRGVQLSVKVEC 82
      F +W + I G+ T K+ + ++V+R DG + + C HRG L VE
1NDO: 35  FARNWLFLTHDSLIPAPGDYVTAKMGIDEVIVSRQNDGSIRAFLNVCRRHGKTLV-SVEA 93

1WW9: 83  KTKSTITCWFYHAWTYRWEDGVLCDILTNPNTSAQI-----GRQKLKTYP-VQEAKGCVF 134
      C YH W + +G L + P + LK V+ G ++
1NDO: 94  GNAKGFVCSYHGWFVG-SNGELQSV---PFEKDLYGESLNK KCLGLKEVARVESFHGFYIY 149

1WW9: 135 IYLG DGDPPP L-----ARDTPPNFLDDD--MEILGKNQ--IIKSNWRLAVEN-GFDPSH 183
      D + PPL A +E++G +IK+NW+ EN D H
1NDO: 150 GCF-DQEAPPLMDYLGDAAWYLEPMFKHSGGLELVGPPGKVVIKANWKAPAENFVGDAYH 208

1WW9: 184 IYIHKDSILVKDNDLALPLGFAPGGDRKQQTRVDDDD 220
      + S +L G + + +
1NDO: 209 VGWTHAS-----SLRSGESIFSSLAGNAALPPEG 237
```

正しくアラインされた残基数が69 (BLAST)から113 (PSI-BLAST)に向上

# 立体構造比較(7)

---

- 配列比較 (blast2seq)
  - E-value:  $3 \times 10^{-5}$ 、Identity: 26%
- 立体構造比較 (CE)
  - Z-score: 5.86、RMSD: 4.34
- 機能
  - 1WW9: carbazole 1,9a-dioxygenase
  - 1NDO: naphthalene dioxygenase

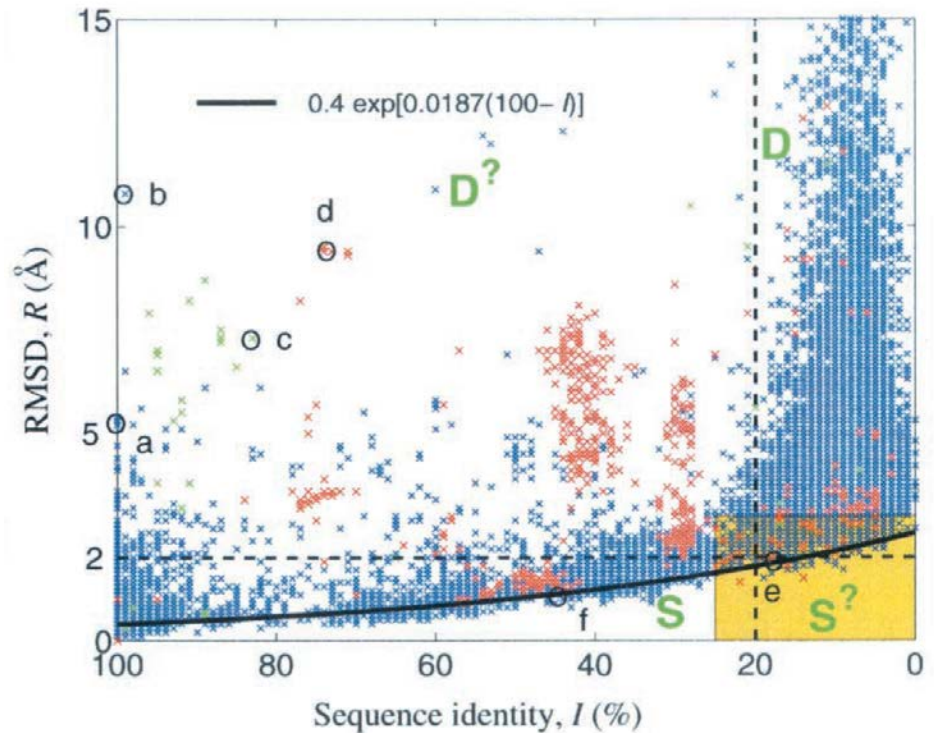


- 進化的類縁関係が明らか→family



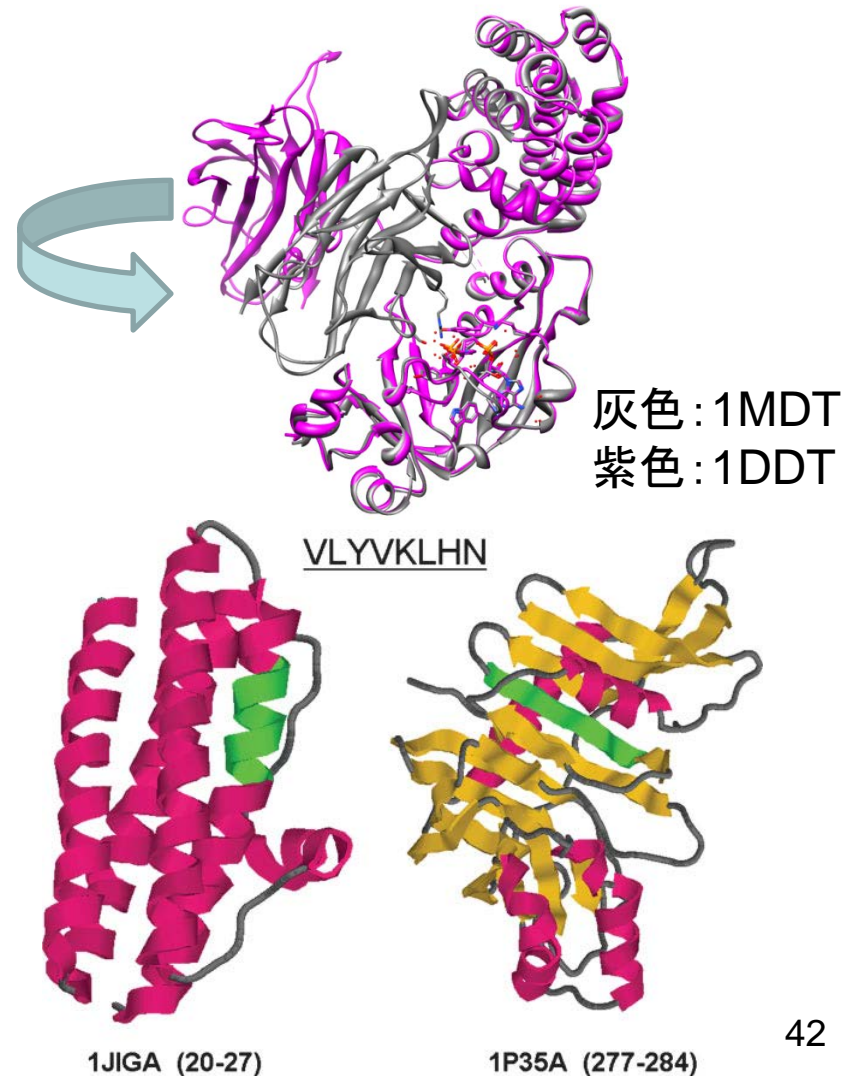
# 配列類似性と立体構造類似性

- 一般に、配列一致度が高くなると、立体構造類似性も高くなる
- 配列一致度が20%を切ると、立体構造が大きく異なるケースが増えてくる
- 配列が似ていなくても立体構造が類似しているケースがあることにも注意



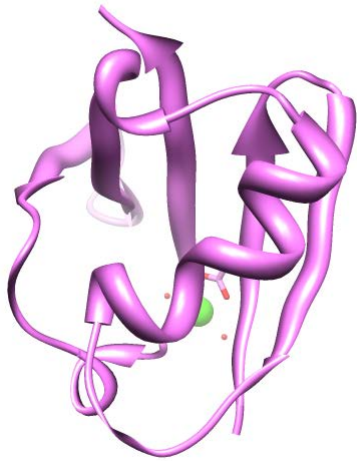
# 配列が似ていても立体構造が異なる例

- ドメインがフレキシブルなリンカで繋がっている場合
  - ドメイン運動によってRMSDが大きくなる
- カメレオン配列を持つ場合
  - 同じ部分配列が異なるタンパク質中で異なる2次構造をとる
  - 最長でも8残基(右図)\*
  - 事例は多くない

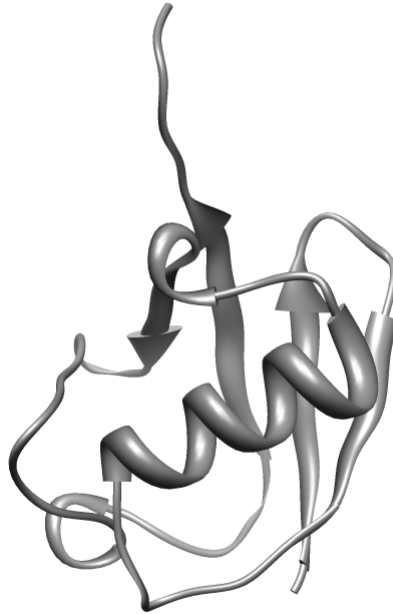


\*Guo *et al. Proteins* **67**, 548 (2007).

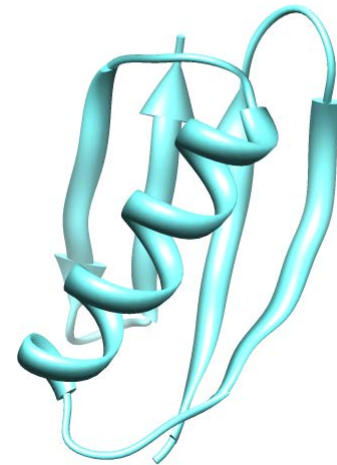
# 立体構造類似性と機能・進化(1)



Ras-binding  
domain of c-Raf-1  
PDB ID: 1GUA  
(B鎖のみ)

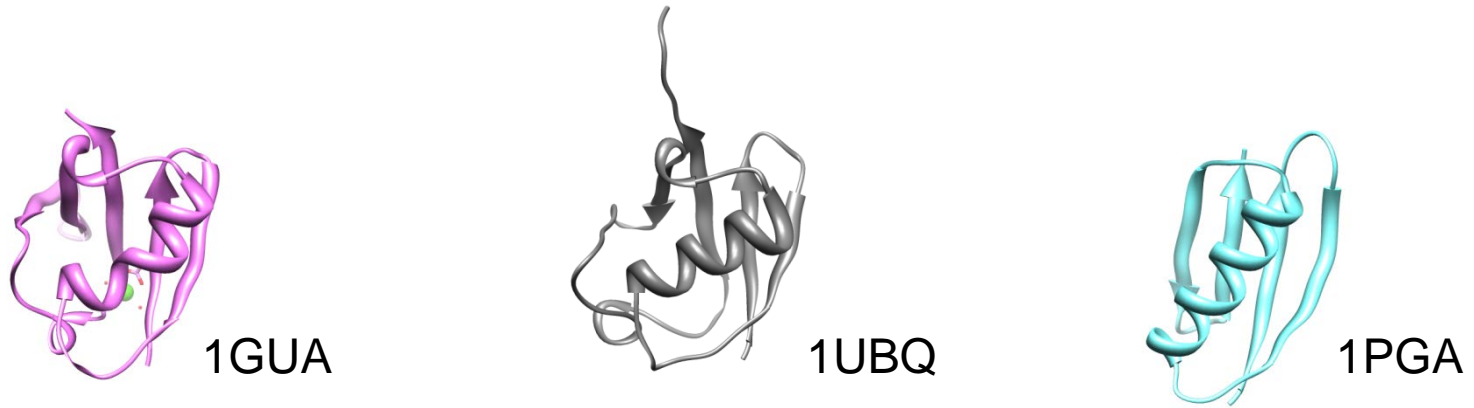


Ubiquitin  
PDB ID: 1UBQ



Immunoglobulin-binding  
domain of protein G  
PDB ID: 1PGA

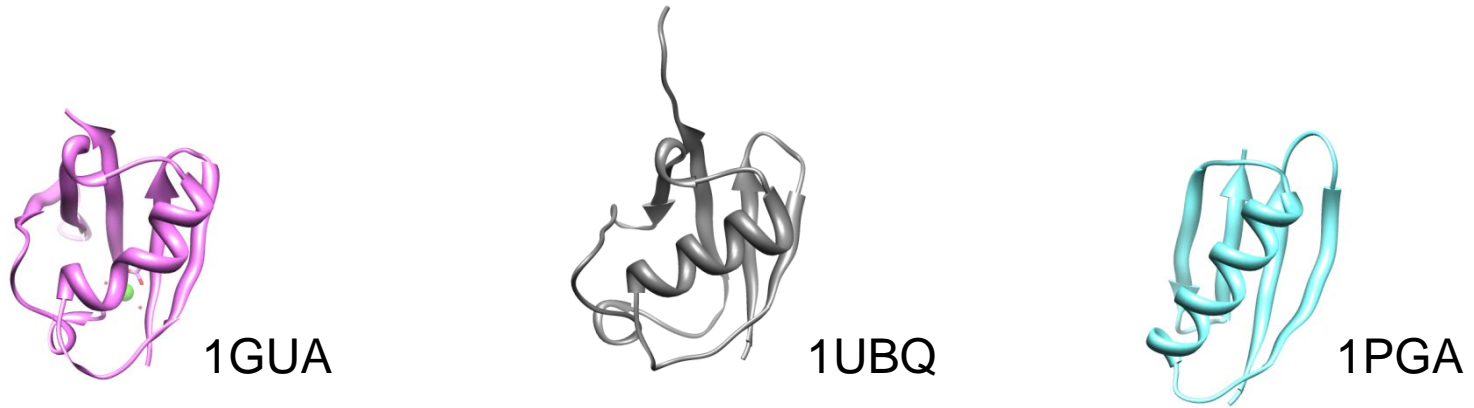
# 立体構造類似性と機能・進化(2)



- 配列比較
  - No hits
- 立体構造比較
  - Z-score: 4.25
  - RMSD: 2.20

- 配列比較
  - E-value: 0.010
- 立体構造比較
  - Z-score: 3.29
  - RMSD: 3.13

# 立体構造類似性と機能・進化(3)



- 立体構造の類似度が高い



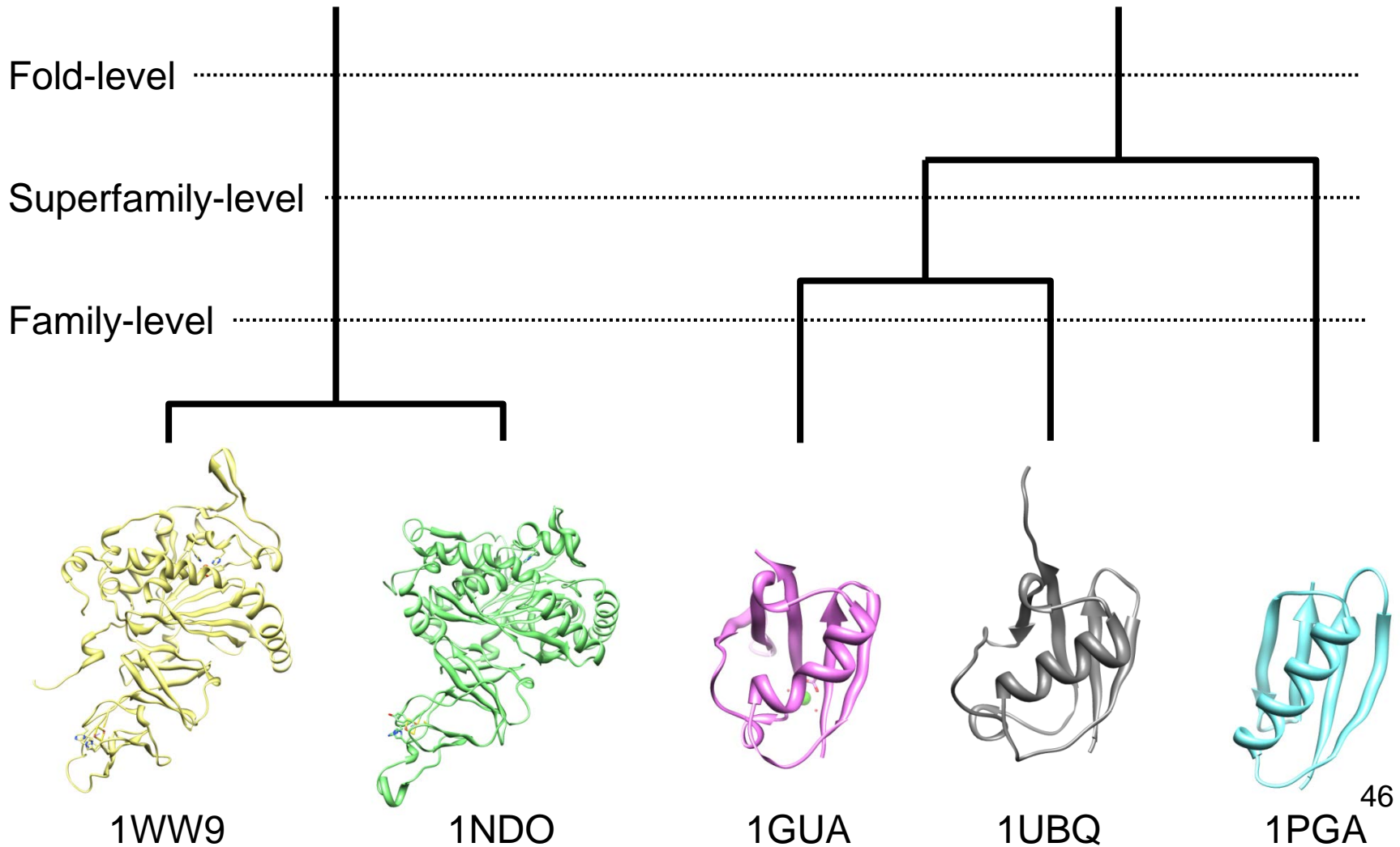
- 進化的類縁関係が推定される  
→ Superfamily

- 配列・立体構造の類似度が低い



- 進化的類縁関係無し
- 単に折りたたみ様式 (fold) が似ているだけ

# 立体構造類似性と機能・進化(4)



# 立体構造分類データベース

---

- 立体構造を立体構造類似性に基づいて階層的に分類したデータベース
  - SCOP (<http://scop.mrc-lmb.cam.ac.uk/scop/>)  
主に人手による分類  
Class → Fold → Superfamily → Family
  - CATH (<http://www.cathdb.info/>)  
主に計算機による分類  
Class → Architecture → Topology → Homologous Superfamily

# SCOPにおける階層(1)

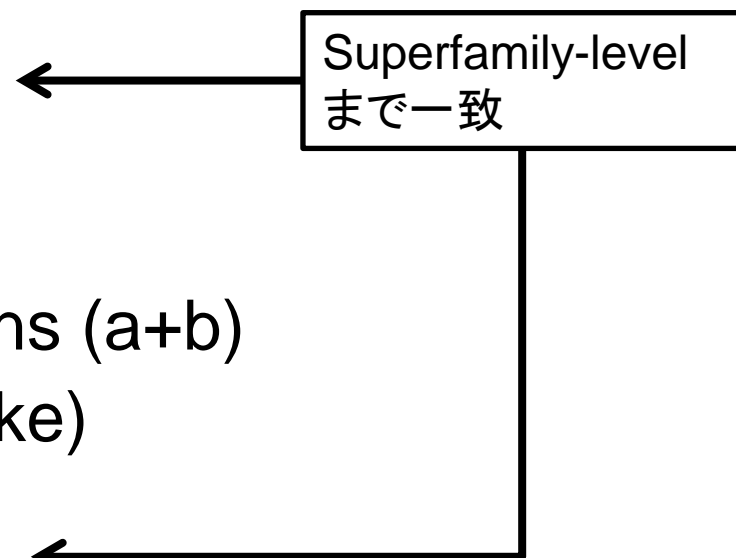
---

- Family: 配列一致度が概ね30%以上あり、進化的な類縁関係が明らかなもの
- Superfamily: 配列一致度は低いが、立体構造と機能の類似性から、進化的な類縁関係が推定されるもの
- Fold: 主な2次構造の配置とトポロジーが同じだが、進化的な類縁関係はないもの  
→ 構造類似性は特定のパッキングやトポロジーを好むタンパク質の物理化学的な性質に起因



# SCOPにおける階層(2)

- 1UBQ
  - Class: Alpha and beta proteins (a+b)
  - Fold: beta-Grasp (ubiquitin-like)
  - Superfamily: Ubiquitin-like
  - Family: Ubiquitin-related
- 1GUA (c-Raf-1 RBD)
  - Class: Alpha and beta proteins (a+b)
  - Fold: beta-Grasp (ubiquitin-like)
  - Superfamily: Ubiquitin-like
  - Family: Ras-binding domain, RBD



# 実習課題2

---

1. 1GUAのB鎖と1PGAのA鎖の配列比較 (blast2seq) と立体構造比較 (CE) を行い、E-value と Z-score、RMSD を報告せよ
2. 1PGA が属する、SCOP の Class、Fold、Superfamily、Family を報告せよ
3. これを、1UBQ、1GUA の c-Raf-1 RBD が属する Class、Fold、Superfamily、Family と比較し、どの階層まで一致するか述べよ

# 課題の提出

---

- 実習課題1の項目1は、エクセルファイルをメールに添付すること
- 実習課題1の項目2、3と、実習課題2はメールの本文に記載すること
- メールは寺田宛 tterada@iu.a.u-tokyo.ac.jp に送ること
- その際、件名は「構造実習」とし、本文に氏名と学生証番号を必ず明記すること