

例題4.3

ジヒドロ葉酸還元酵素 (DHFR) は、ジヒドロ葉酸をNADPHの還元力を用いて、テトラヒドロ葉酸に還元する酵素である。テトラヒドロ葉酸は補酵素としてアミノ酸や核酸の生合成に利用される。ジヒドロ葉酸還元酵素の立体構造は多くの生物種で決定されているが、キイロショウジョウバエのものは決定されていない。そこで、Modellerを用いてキイロショウジョウバエのジヒドロ葉酸還元酵素の立体構造を予測せよ。

解答例

キイロショウジョウバエのジヒドロ葉酸還元酵素のUniProtKBのエントリを取得するには、「DHFR」をキーワードとして検索し、生物種 (Organism) が *Drosophila melanogaster* (Fruit fly) であるヒットを探す。エントリIDはP17719、エントリ名はDYR_DROMEである。このエントリを開き、左側の項目リストから「Sequence」に飛ぶとアミノ酸配列をFASTA形式で取得できる。NCBIのBLASTページからProtein BLASTを開き、クエリ配列のテキストボックスにこの配列を貼り付ける。Databaseを「Protein Data Bank proteins (pdb)」に変更して「BLAST」をクリックすると、キイロショウジョウバエのDHFRと類似の配列を持ち、立体構造が決定されている配列のリストが表示される (下図a)。ここでは、マウス由来のDHFR (PDB ID: 2FZJのA鎖) がトップに表示されているので、これを鋳型タンパク質とする。このヒットのDescriptionの列にあるリンクをクリックすると、アラインメントが表示される。これを参考に、Modellerのアラインメントファイルを作成する (下図b)。鋳型構造にはNADPHと阻害剤が含まれているので、ここではこれらを結合したモデルを構築する。Modellerに付属しているスクリプト例model-ligand.pyを参考にスクリプトを作成する (下図c)。これを実行すると、10個のモデルが生成する。ログファイルmodel-ligand.logの末尾にエネルギー値がmolpdfの値として表示されているので、この値が低いモデルを最終的なモデルとして選択する (下図d)。

(a)

Descriptions		Graphic Summary	Alignments	Taxonomy				
Sequences producing significant alignments								
Download New Select columns Show 100 ?								
<input checked="" type="checkbox"/> select all 100 sequences selected GenPept Graphics Distance tree of results Multiple alignment New MSA Viewer 								
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> New Insights into DHFR Interactions: Analysis of Pneumocystis carinii and Mouse DHFR Complexes with NADPH an...	Mus musculus	164	164	97%	3e-51	48.09%	186	2FZJ_A
<input checked="" type="checkbox"/> 2.2 ANGSTROMS CRYSTAL STRUCTURE OF CHICKEN LIVER DIHYDROFOLATE REDUCTASE COMPLEXED W...	Gallus gallus	164	164	97%	3e-51	45.36%	189	1DR1_A
<input checked="" type="checkbox"/> Alternate Binding Modes Observed for the E- and Z-isomers of 2,4-Diaminofuro[2,3-d]pyrimidines as Ternary Complex...	Mus musculus	164	164	97%	3e-51	48.09%	186	3K45_A

(b)

C; Sequence alignment of Mouse DHFR and Fruit fly DHFR

```
>P1;model
sequence:model:1:A:184:A:DHFR:Drosophila melanogaster::
MLRFNLIVAVCENFGIGIRGDL PWR- IKSELKYFSRTTKRSTSDPTKQNAV
VMGRKTYFGVPESKRPLPDR LNIVLSTTLQESDL PKGV-LLCPNLETAMK
ILEE---QNEVENIWIVGSGVYEEAMASPRCHRLYITKIMQKFCDCDTFF
PAIPDSFREVAPDSMDPLG-VQEENGIKFEYKILEKHS..*
```

```
>P1;2FZJ
structureX:2FZJ:1:A:188:A:DHFR:Mus musculus:2.00:0.294
VRPLNCIVAVSQNMGIGKNGDLPWPPLRNEFKYFQRM TTTSSVEGKQNLV
IMGRKTWFSIPEKNRPLKDRINIVLSRELKEP--PRGAHFLAKSLDDALR
LIEQPELASKVDMVWIVGSSVYQEAMNQPGLRLRFVTRIMQEFESDTFF
PEIDLGKYKLLPEYPGVLSVQEEKGIKYKFEVYEKKD..*
```

(c)

```
from modeller import *
from modeller.automodel import *

log.verbose()
env = environ()
env.io.atom_files_directory = ['.']
env.io.hetatm = True

a = automodel(env, alnfile = 'align-ligand.ali',
              knowns = '2FZJ', sequence = 'model')
a.starting_model= 1
a.ending_model = 10
a.make()
```

(d)

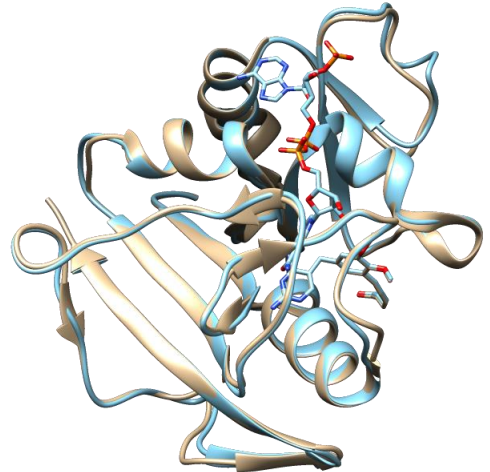


図 キイロシヨウジョウバエのDHFRの立体構造予測。(a) BLAST検索の結果。(b) ヒスチジンのプロトン化状態。(a) アラインメントファイル。(c) Modellerスクリプト。(d) 予測構造 (水色) と鋳型 (茶色) の重ね合わせ。