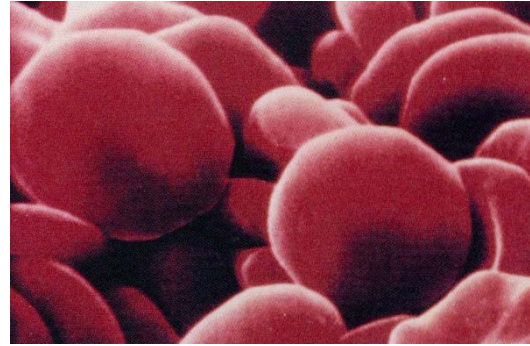


# ペプチド, タンパク質の高次構造



ホタルの発光



赤血球



サイの角

*"Lehninger Principles of Biochemistry"より*

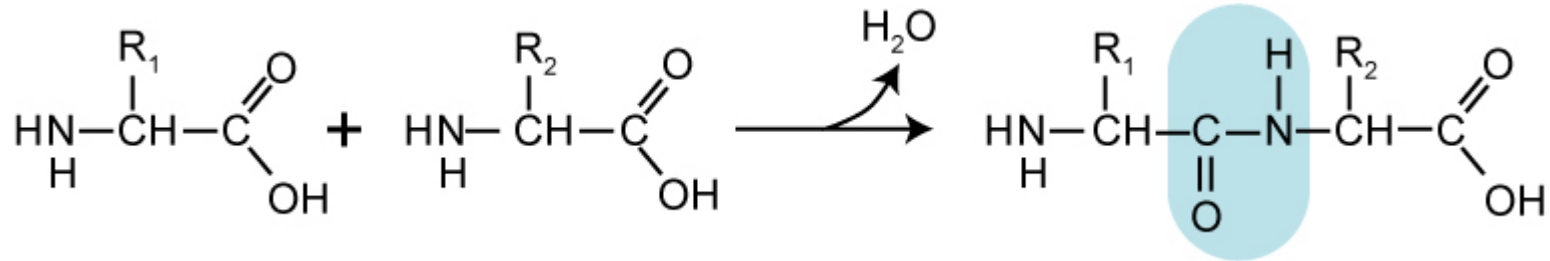
## タンパク質には多様な機能がある

- 細胞骨格
- 収縮
- 輸送
- 貯蔵
- 生体防御
- 酵素
- 受容体
- 代謝調節
- 構造

# ペプチド結合

アミド結合であるが、アミノ酸同士の場合はペプチド結合と呼ぶ

図2-22



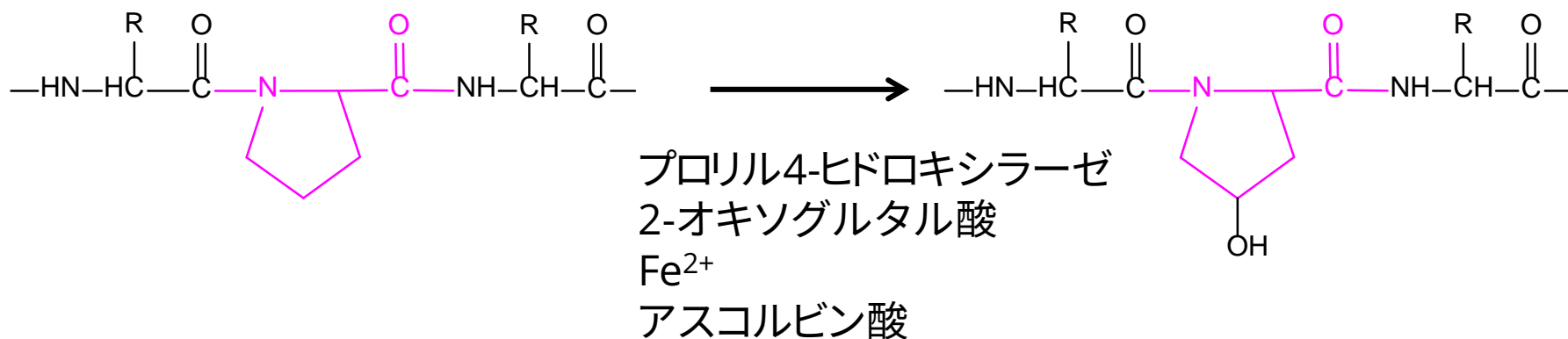
ペプチド結合

- ペプチド結合 (共有結合)
- カルボキシ基とアミノ基との脱水縮合
- 2つのアミノ酸 → ジペプチド
- 3つのアミノ酸 → トリペプチド
- 多数のアミノ酸 → ポリペプチド
- 左端にアミノ基末端 (N末端), 右端: カルボキシ基末端 (C末端) ← 表記 (慣用)
- ペプチド鎖の伸長 (翻訳 translation) は N末端から C末端方向に進む。
- アミノ酸 **残基** (amino residue): ペプチド, タンパク質を構成するアミノ酸

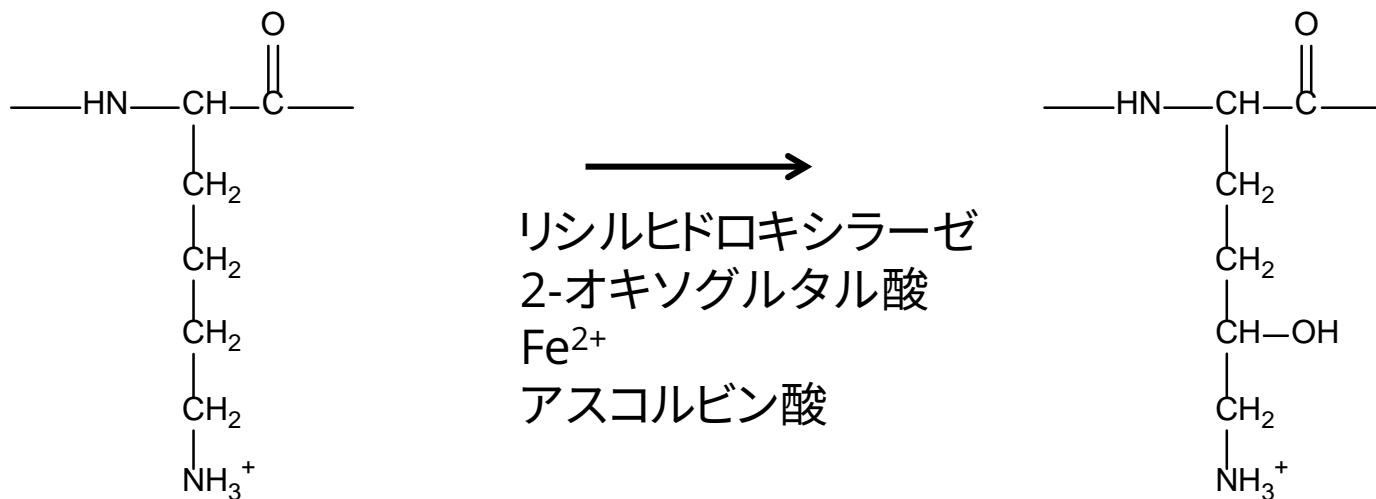
# ポリペプチドのアミノ酸残基への修飾反応 (翻訳後修飾)

図2-23

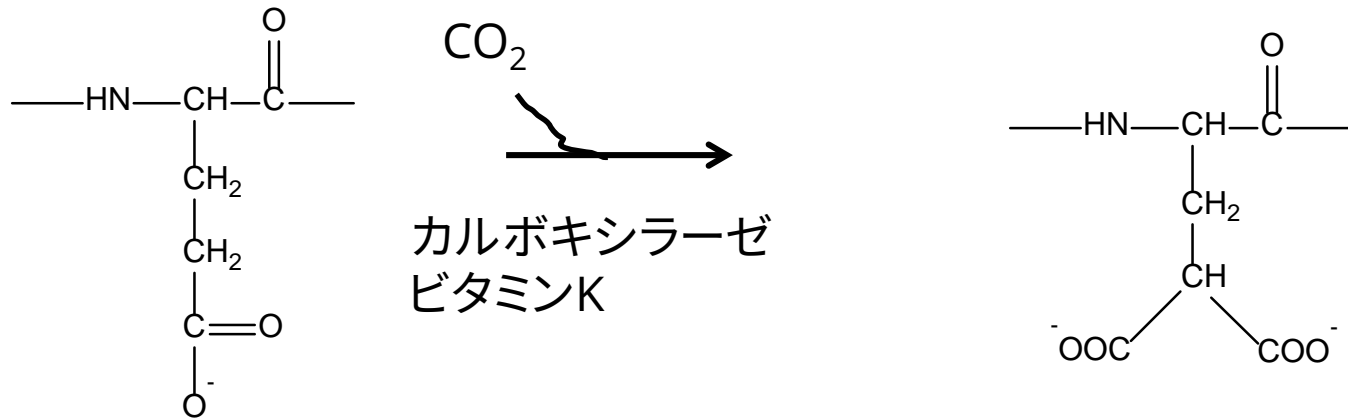
## ■ 4-ヒドロキシプロリン (コラーゲン)



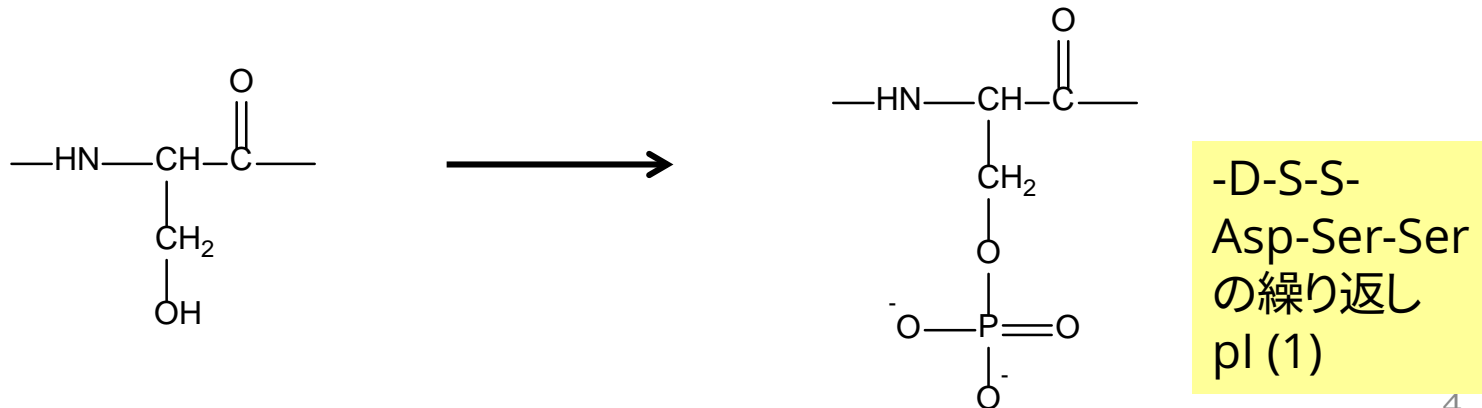
## ■ 5-ヒドロキシリシン (コラーゲン)



■  $\gamma$ -カルボキシグルタミン酸(オステオカルシン, 血液凝固因子)



■ *O*-ホスホセリン(象牙質リンタンパク質(ホスホホリン))



# 重要なペプチド

生理活性ペプチドは 1000以上

カルノシン

グルタチオン

キニン10(カリジン)

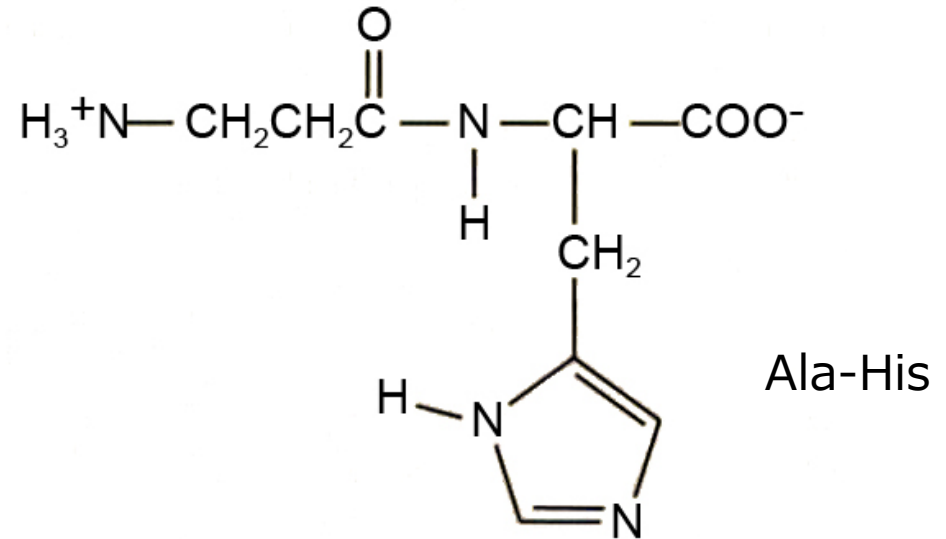
キニン9(ブラジキニン)

アンジオテンシン

サブスタンスP

バゾプレシン

ソマトスタチン



β-アラニル-L-ヒスチジン



# タンパク質の分類

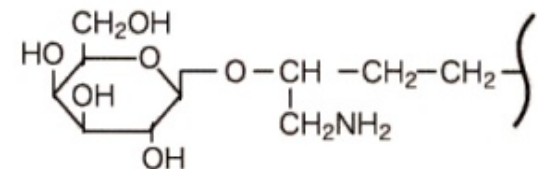
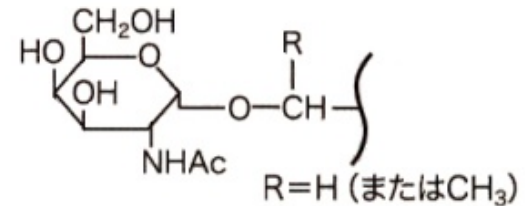
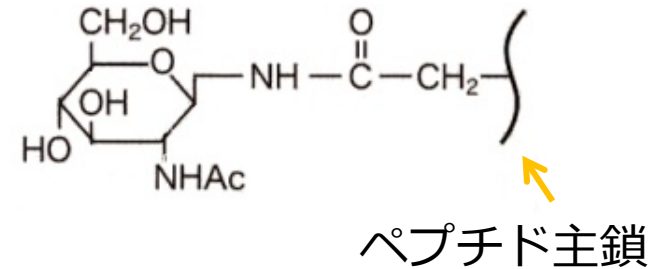
•組成	単純タンパク質 複合タンパク質	糖タンパク質 リポタンパク質 リンタンパク質 金属タンパク質	アルブミン, グロブリン ほとんどのタンパク質 血漿リポタンパク質 ホスホホリン ヘモグロビン
•形状	球状 繊維状		ミオグロブリン コラーゲン, エラスチン
•溶解性	水溶性 水に不溶性		病原性プリオン
•等電点	酸性 中性 塩基性	ペプシン	ヘモグロビン ヒストン
•局在	細胞内 膜 分泌		細胞質タンパク質 受容体 ペプチドホルモン

## タンパク質の分類

組成	単純タンパク質		アルブミン, グロブリン
	複合タンパク質	糖タンパク質	ほとんどのタンパク質
		リポタンパク質	血漿リポタンパク質
		リンタンパク質	ホスホホリン
		金属タンパク質	ヘモグロビン
形状	球状		ミオグロブリン
	繊維状		コラーゲン, エラスチン
溶解性	水溶性		ペプシン
	水に不溶性		病原性プリオン
等電点	酸性		ホスホホリン
	中性		ヘモグロビン
	塩基性		ヒストン
局在	細胞内		細胞質タンパク質
	膜		受容体
	分泌		ペプチドホルモン

# 糖タンパク質 glycoprotein 糖鎖がタンパク質に結合

- *N*-アセチル-D-グルコサミンとアスパラギン間の *N*-グリコシド結合
- (卵白アルブミン, 血漿糖タンパク質, チログロブリン) アスパラギン結合型
- *N*-アセチル-D-ガラクトサミンとセリンまたはトレオニンとの間の *O*-グリコシド結合
- (顎下腺ムチン, ヒト赤血球膜糖タンパク質)
- D-ガラクトースとヒドロキシリシンとの間の *O*-グリコシド結合
- (コラーゲン)





# リポタンパク質 lipoprotein

## 脂質とタンパク質の複合体

### 1) 構造リポタンパク質

細胞膜

ミトコンドリア膜

ミエリン構造膜

細菌細胞膜

### 2) 可溶性リポタンパク質

血漿リポタンパク質 (HDL, LDL, キロミクロン)

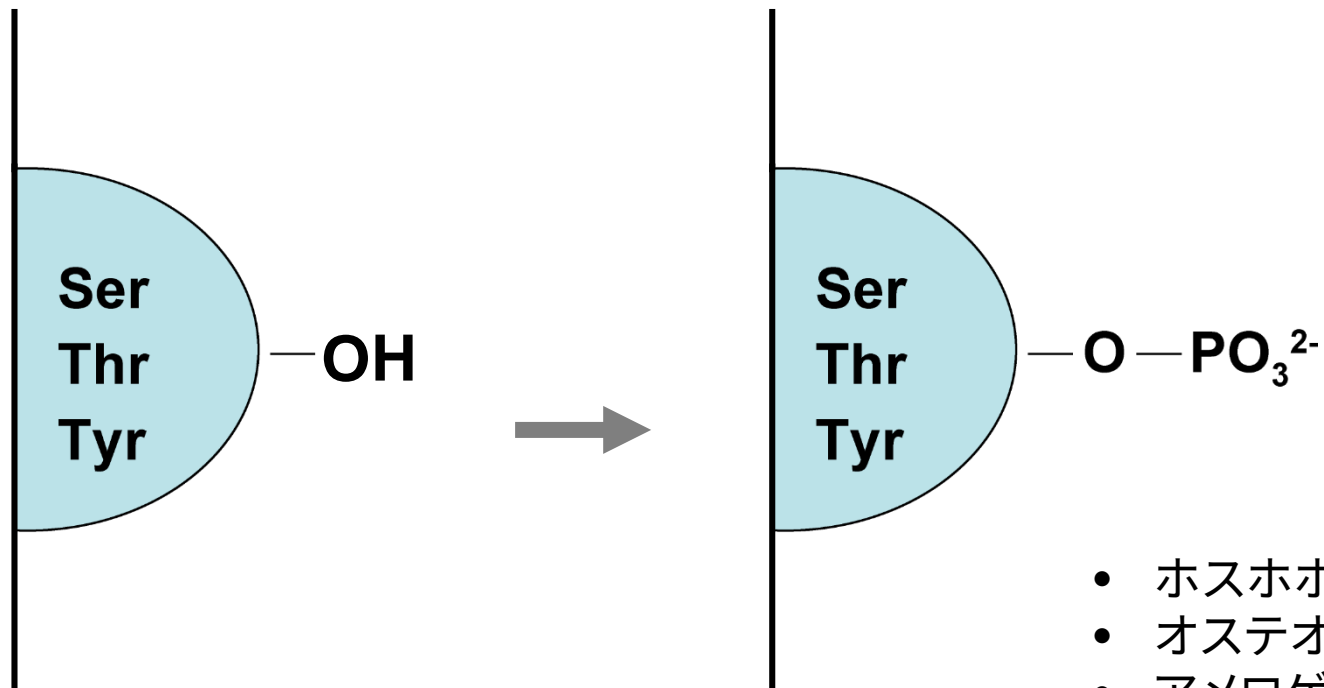
ミルクリポタンパク質

卵黄リポタンパク質

# リンタンパク質 phosphoprotein

リンを含むタンパク質

単純タンパク質のヒドロキシアミノ酸のヒドロキシ基を介して  
にリン酸が共有結合(エステル結合)



- ホスホホリン
- オステオネクチン
- アメロゲニン
- エナメルリン

金属タンパク質 metalloprotein 金属が結合したタンパク質

鉄 トランスフェリン, フェリチン

亜鉛 炭酸デヒドラターゼ, インスリン

銅 アスコルビン酸オキシダーゼ

色素タンパク質:色素を結合したタンパク質

ミオグロビン

ヘモグロビン

ペルオキシダーゼ

カタラーゼ

ロドプシン

核タンパク質:核酸(DNA, RNA)と結合するタンパク質

ヒストン

プロタミン(精子核特異的タンパク質)

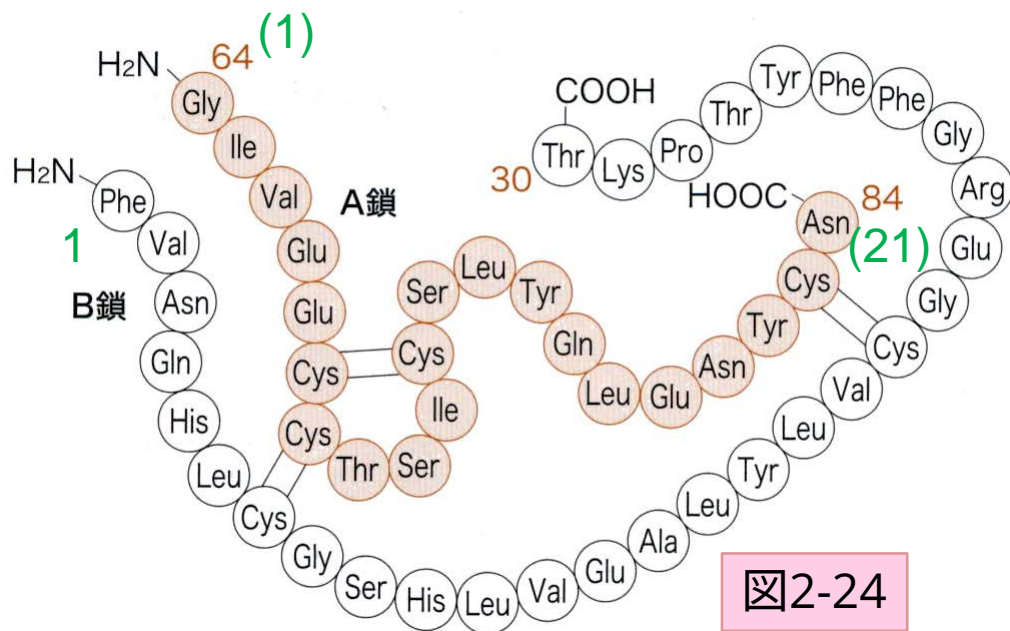
タンパク質は立体構造が保たれているときにのみ機能を発揮できる。  
タンパク質の構造は一次構造～四次構造で説明できる。

## タンパク質の一次構造 (primary structure)

---

- アミノ酸配列 (amino acid sequence)
- アミノ酸配列順序はタンパク質をコードする遺伝子のmRNA塩基配列で決まる。
- 一次構造が決まると、おのこのアミノ酸に特有の側鎖の性質とその相互作用によって基本的には三次構造もほぼ決まる。
- アミノ酸が連なってポリペプチド鎖を構成する。
- システイン残基によるジスルフィド結合 (S-S) の位置も含めて、タンパク質の一次構造と呼ぶ。

# ヒトインスリンinsulinの一次構造



1953年 Frederic Sanger  
一次構造決定  
(サンガー法)

ウシインスリン(51残基)

21残基のA鎖

30残基のB鎖

1個の鎖内S-S結合

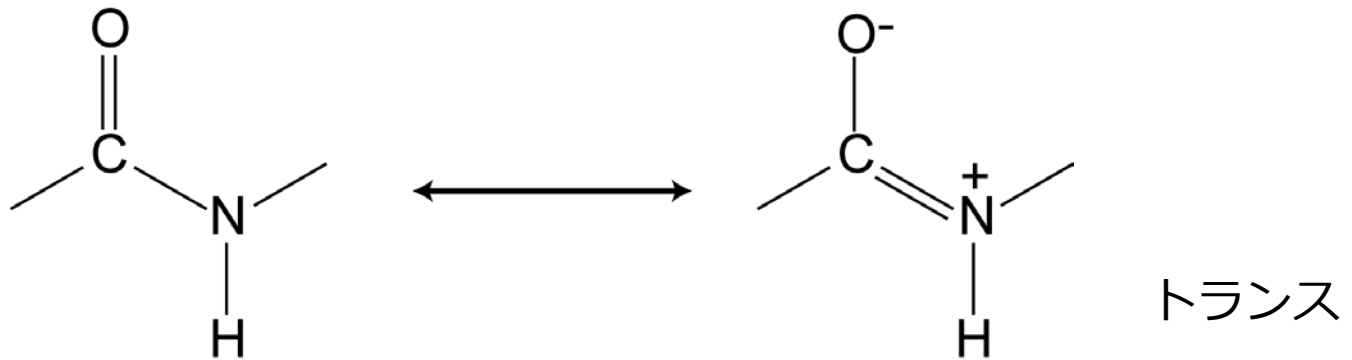
2個の鎖間S-S結合

	A8	A10	B30
ヒト	Thr	Ile	Thr
ブタ	Thr	Ile	Ala
ウシ	Ala	Val	Ala

ヒトとウシは3残基,  
ヒトとブタは1残基異なる

(正)A5 Gln

# ペプチド結合は部分的二重結合的性質をもっている



回転の自由度がない

ペプチド結合中の  $\text{O}-\text{C}-\text{N}-\text{H}$  は  
すべて同一平面上に存在

$\text{O}=\text{C}-\text{N}-\text{H}$  以外の部分は回転する  
ポリペプチド鎖は多様な立体配置を取り得る

# 二次構造 (secondary structure)

- ポリペプチド鎖の主鎖が一次配列上で近いアミノ酸ととる局所的な規則的な立体構造
- ペプチド骨格の, N-H基とC=O基との間の水素結合により固定
- 大きく2種類, ヘルックス(らせん)構造とシート構造



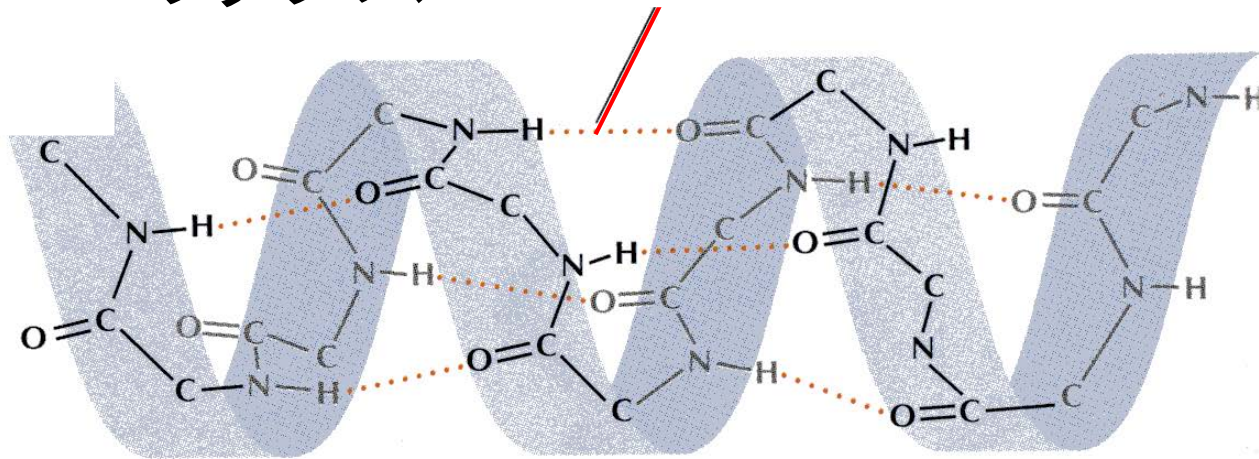
## 代表的な二次構造

- $\alpha$ -ヘルックス
- $\beta$ -シート    平行 $\beta$ シート    parallel  
                  逆平行 $\beta$ シート    antiparallel
- ターン構造 (バンド構造)
- ループ構造 (ひも状, 特定の主鎖間の水素結合をもたない)

図2-27  
 $\alpha$ -ヘルックス構造,  
 $\beta$ -シート構造

# α-ヘリックス

水素結合



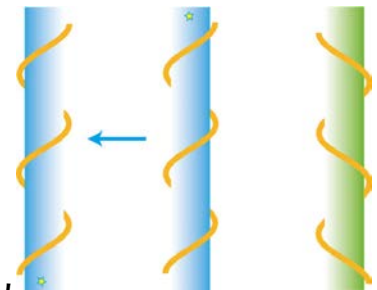
ペプチド結合のカルボニル酸素(C=O)と,同一ポリペプチド鎖の4残基離れたペプチド結合の窒素(N-H)についている水素原子との間の水素結合で形成される立体構造. 3.6残基/回転 側鎖は外側.

らせん軸に平行な水素結合によりらせん構造が安定化する.

右巻が圧倒的に安定

線維状タンパク質でも球状タンパク質もよくみられる構造

右巻 左巻



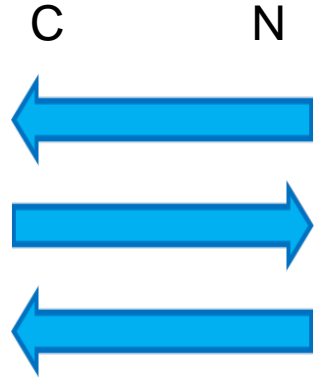
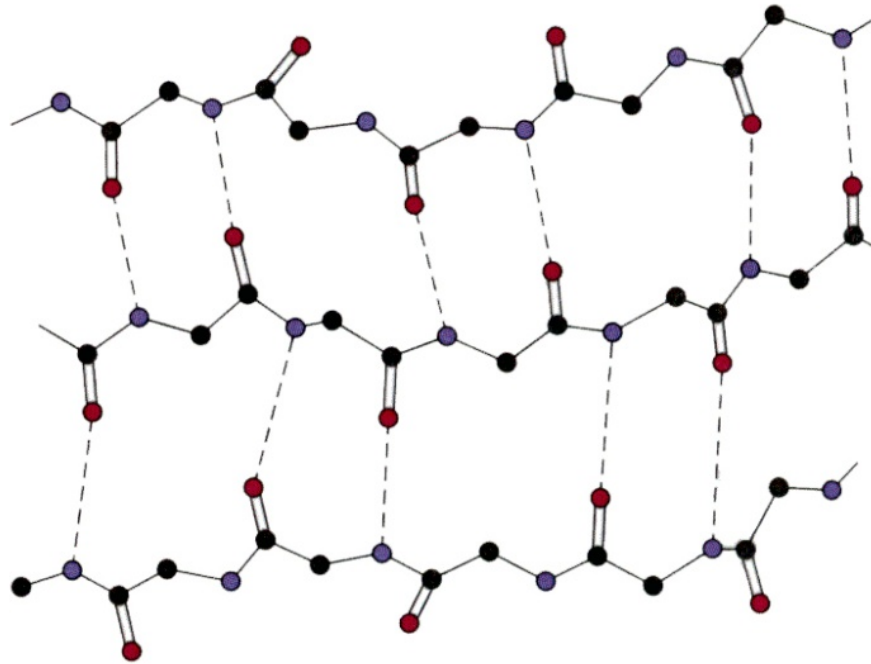
逆さまにしても  
同じ



# βシート

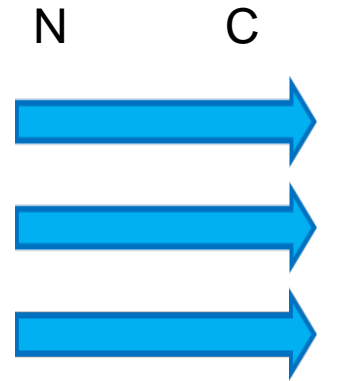
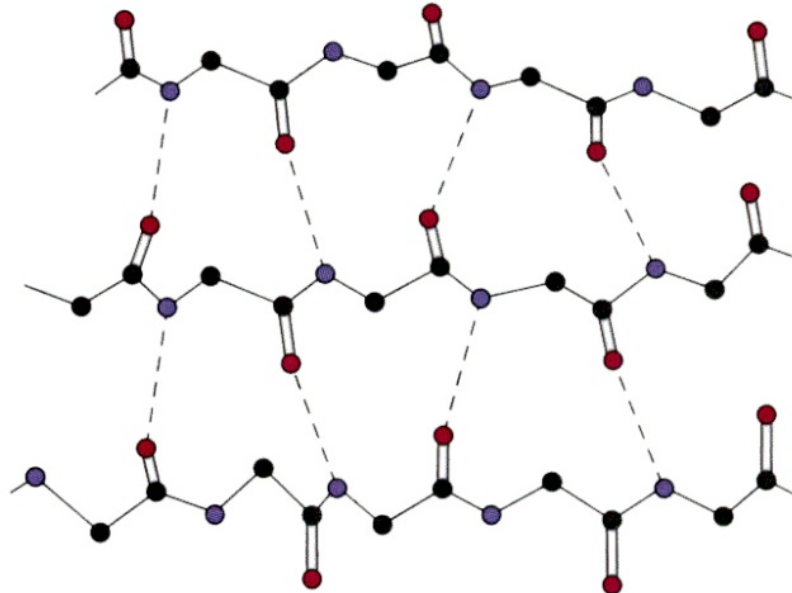
βひだ状シート

逆平行



C  
O  
N

平行



ペプチド鎖の方向と  
直角に水素結合。  
同じ鎖間,異なる鎖  
間で形成.

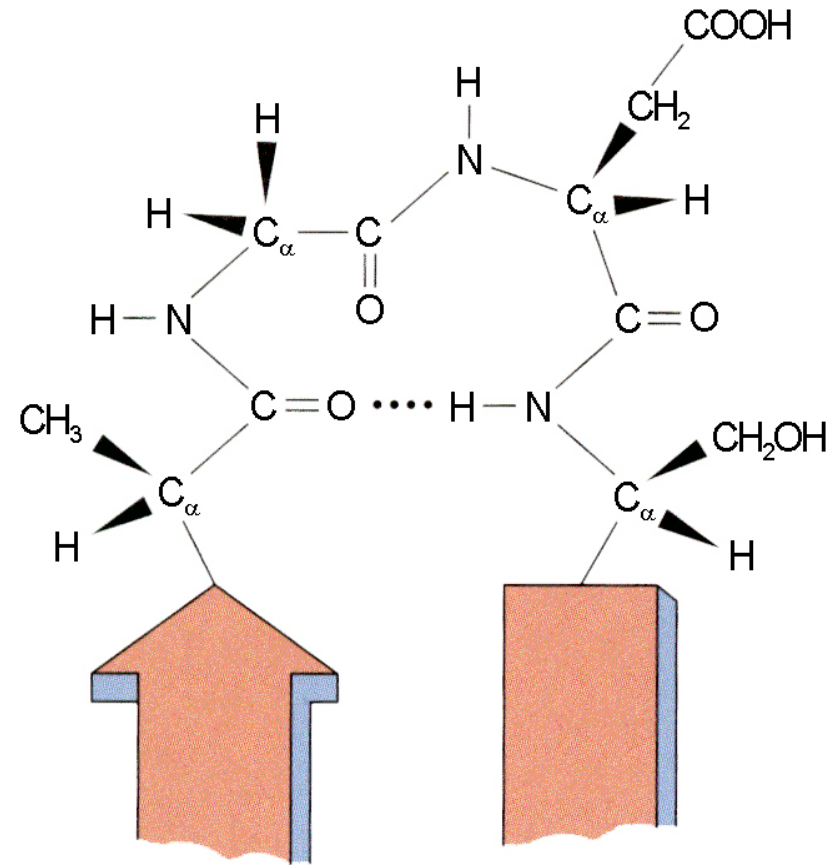
# βターン

逆平行βシートの2つを結合させる

ポリペプチド鎖の**方向を逆に**してコンパクトな球状タンパク質を形成するのに寄与

1番目残基のカルボニル基と4番目残基の主鎖アミド基との間に**水素結合**が形成し、折り返し構造が安定化

一般的に4つのアミノ酸で構成  
ポリペプチド鎖に折れ曲がりを作るイミノ酸である**プロリン**, 最小の側鎖をもつ**グリシン**がしばしばみられる。



Ala-Gly-Asp-Ser

# 球状タンパク質の三次構造 (tertiary structure)

二次構造を形成したポリペプチド鎖が空間的にとる立体構造。

複数のドメインをもつ場合に空間的に互いにどのように関係しているのか、を意味する。

酸性アミノ酸や塩基性アミノ酸などの親水性アミノ酸が表面に多く存在し、疎水性アミノ酸は内部に存在し、疎水性相互作用によって立体構造の安定化に貢献(球状タンパク質)

**ドメイン (domain)**: タンパク質の機能と三次元的構造の基本的な単位. 30~300のアミノ酸残基からなる. 一つあるいは複数の超二次構造から構成.



# 三次構造を安定化する相互作用

- ① **静電的相互作用**: 酸性アミノ酸残基のカルボキシ基と塩基性アミノ酸残基のプロトン化した側鎖の間で起こる
- ② **疎水的相互作用**: 疎水性アミノ酸側鎖のほとんどをタンパク質の内部に引き込むようにはたらく
- ③ **水素結合**:  $\text{NH}_2$ ,  $\text{NH}$ ,  $\text{OH}$ 基のHが近くのOやNに共有されるような結合
- ④ **ジスルフィド結合** (共有結合) ポリペプチド内-S-S-

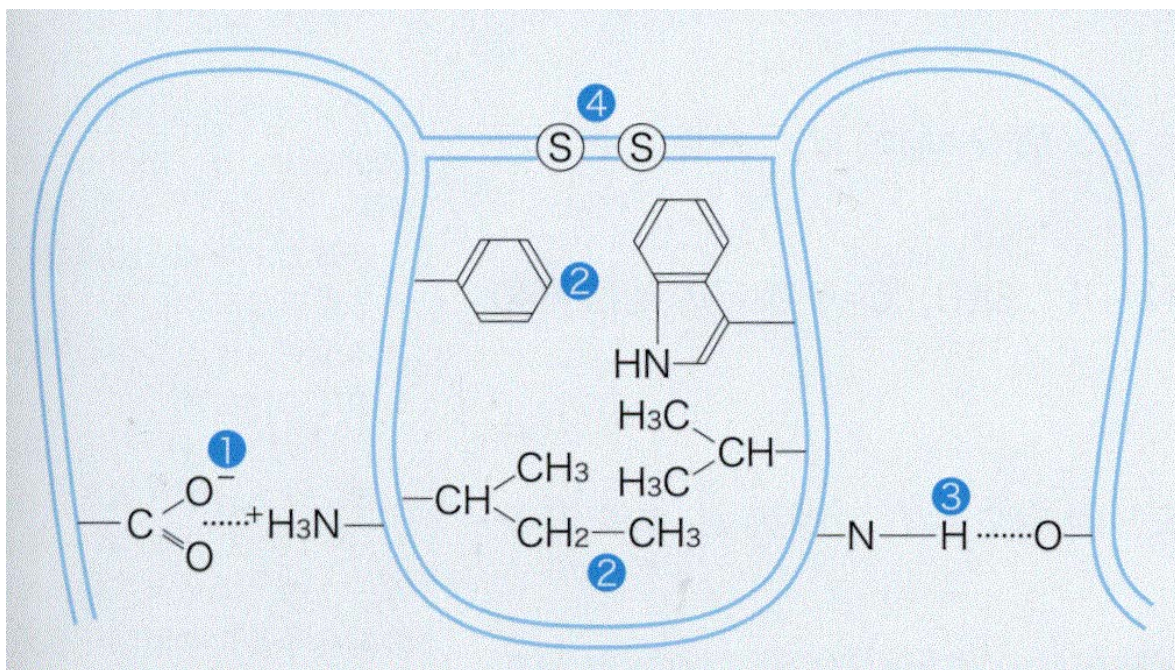


図2-26

# 四次構造

三次構造をもつポリペプチド鎖が複数会合して多サブユニットを形成する空間配置

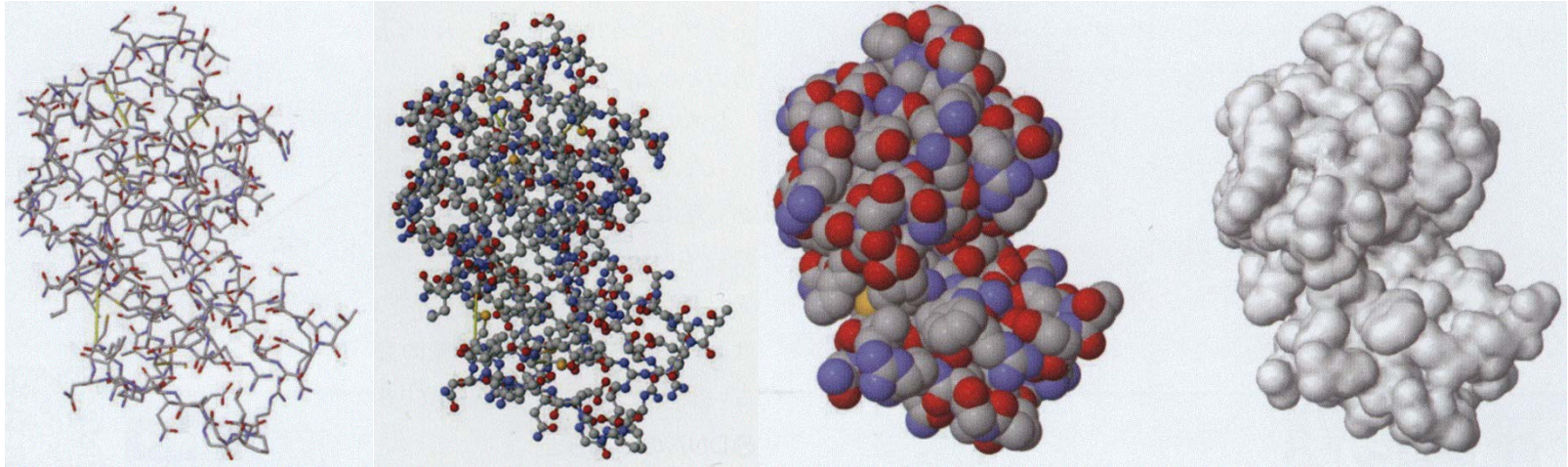
複数集まることで機能をもつ

多くのタンパク質は単量体 (四次構造をもたない)	ミオグロビン
二量体      dimer	インテグリン
三量体      trimer	三量体Gタンパク質
四量体      tetramer	ヘモグロビン

サブユニットは、非共有結合 (静電的引力, 水素結合および疎水性相互作用) で結合する.

# 三次構造あるいは四次構造の表示方法

すべての原子を表示



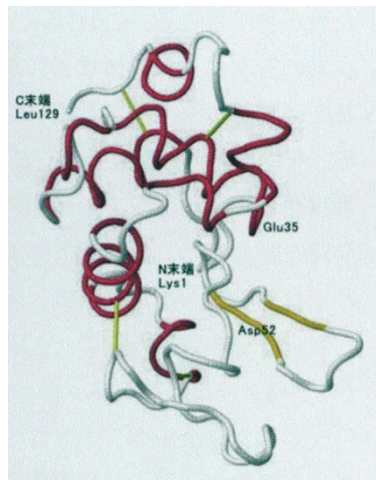
針金モデル

球棒モデル

空間充填モデル

分子表面モデル

骨格だけを表示



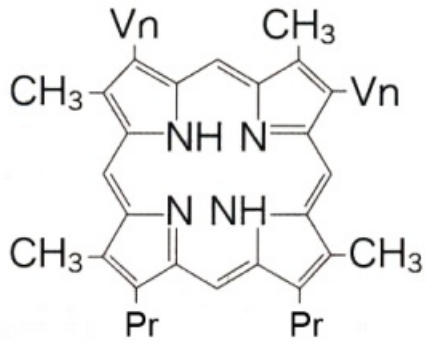
骨格モデル



リボン(カートン)モデル

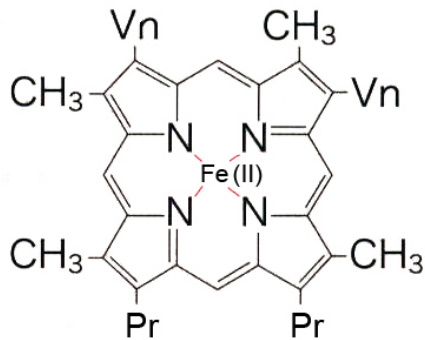
卵白リゾチーム  
PDB:193L

# ミオグロビン



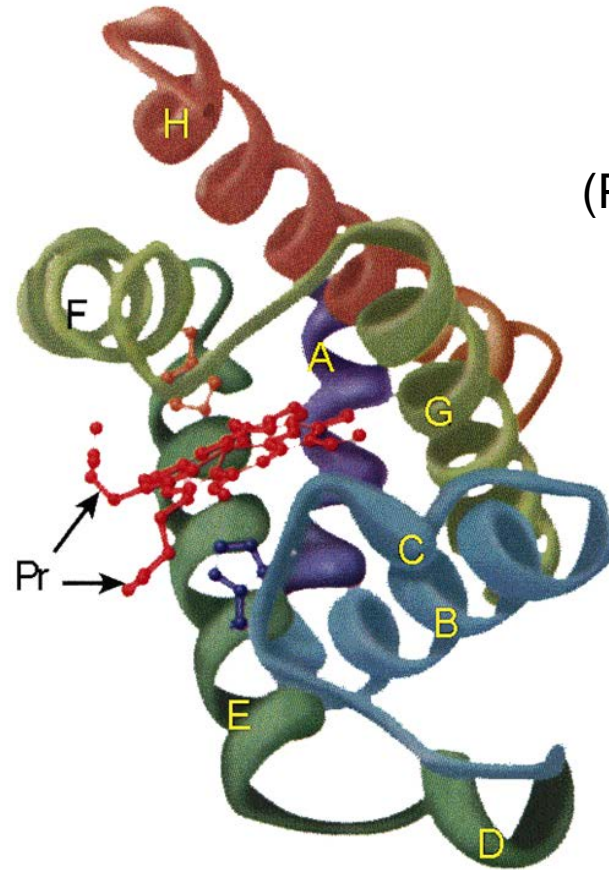
Pr : -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH  
Vn : -CH=CH<sub>2</sub>

ポルフィリン



Pr : -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH  
Vn : -CH=CH<sub>2</sub>

ヘム



(PDBID:1a6n)

153個アミノ酸からなる分子量17,000の一本鎖ポリペプチドで、4.5x3.5x2.5 nmに折りたたまれた分子。右巻αヘリックス8個(75%)をもつ。

補欠分子属のヘムを含む。

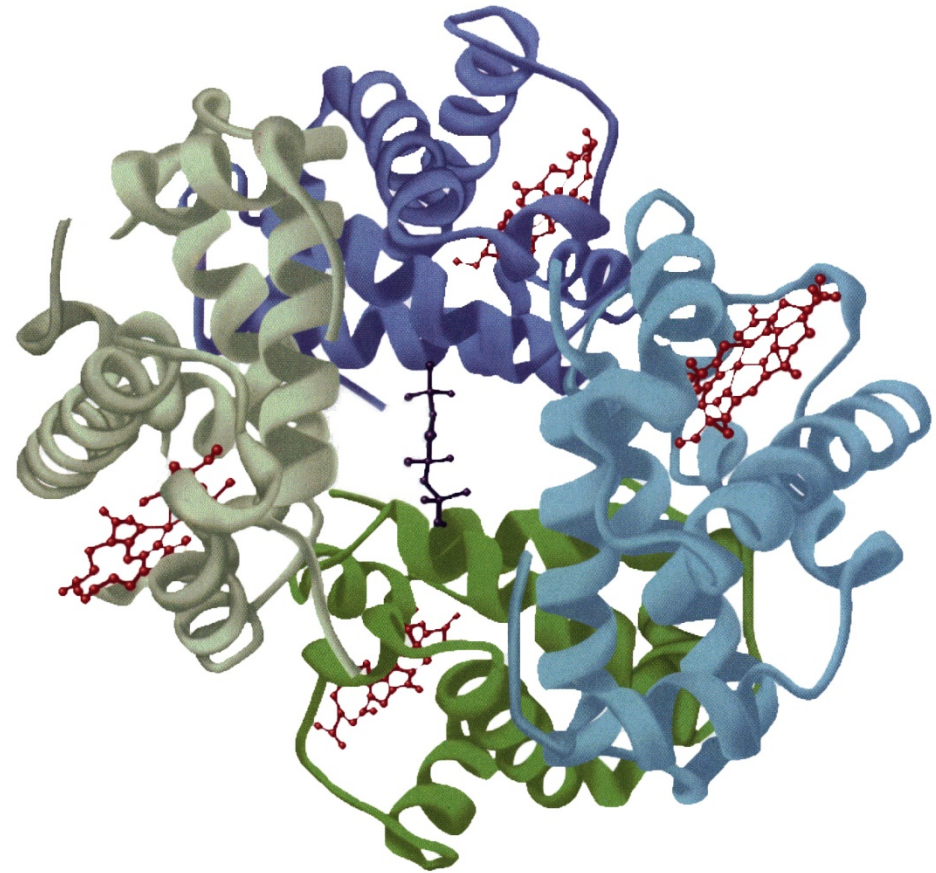
# ヘモグロビン

ヘモグロビン( $\alpha_2\beta_2$ )は,4つのポリペプチド鎖(サブユニット)から構成される四量体である.

ヘモグロビンサブユニットの二次構造,三次構造はミオグロビンに似ている

ヘモグロビンの四量体構造は,協調的相互作用を可能にしている

4分子の酸素が1分子のヘモグロビンに結合することができる.



(PDBID:1b86)



# タンパク質構造データベース

Protein Data Bank, PDB

タンパク質と核酸の3次元構造の構造座標(立体配座)を蓄積している  
国際的な公共のデータベース

<http://pdj.org/>

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

<http://www.ebi.ac.uk/pdbe/>

X線結晶解析法, NMR法(核磁気共鳴法)などによって実験的に決定された  
データ

**PDB ID: 4文字の識別子**

ミオグロビン	1MBC
免疫グロブリン	12E8
リボヌクレアーゼA	7RSA
アルコール分解酵素	1A4U

構造データを見るにはソフトウェアが必要

RasMol

CueMol

# タンパク質の変性 denaturation

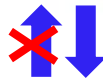
ペプチド結合が加水分解されることなく

タンパク質の二次構造以上の構造が破壊されること

天然のタンパク質  
(活性型)



不可逆的



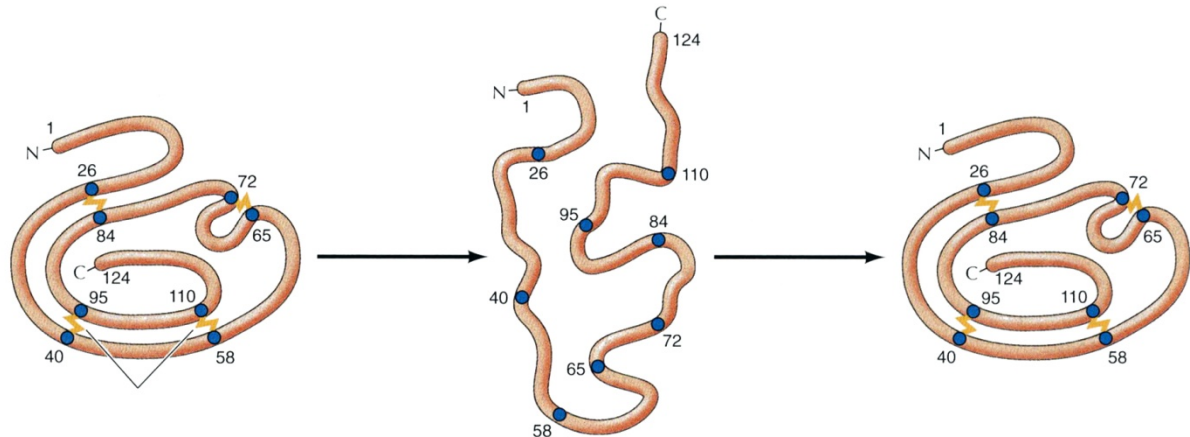
変性要因

- 熱
- 機械的な攪拌
- 極端なpH(強酸, 強塩基)
- 有機溶媒: アルコール, アセトン
- 界面活性剤: SDS (ドデシル硫酸ナトリウム)
- 尿素, 塩酸グアニジン
- メルカプトエタノール

変性タンパク質  
(不活性型)  
ランダムコイル  
(無秩序な構造)



理想的な条件  
下では, 変性が  
**可逆的**なことも  
ある



# タンパク質の折りたたみ protein folding

なぜ変性すると一次構造が同じであるのに、自然の状態(native)の構造に戻ることが難しいのか？

試験管内でタンパク質の三次構造を形成させるには非常に時間がかかる。細胞内ではフォールディングを助ける分子シャペロンが数多く存在し、速やかに正しい立体構造が形成される。

タンパク質の合成は、ペプチド鎖全部が完全に合成し終わるまで待たずに、合成しながら折りたたみはじめる。

また、細胞内ではシャペロン chaperone と呼ばれる特別なタンパク質ファミリーが関与していることが多い。シャペロンは折りたたみを調節する。

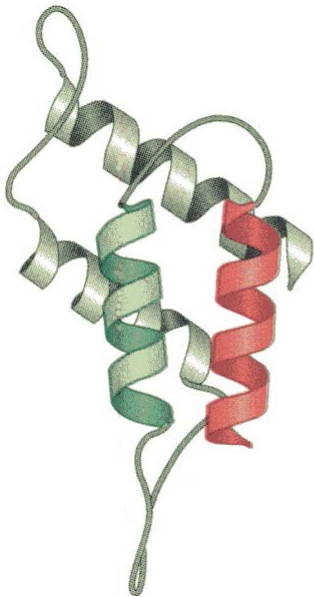
1. タンパク質の合成が終わるまで折りたたまれないようにする
2. 折りたたみ過程の最後の段階の速度を増す触媒として働く
3. 折りたたみの際にタンパク質を保護してもつれを防ぐ

熱ショックタンパク質 (hsp): 細胞や個体が平常温度よりも5-10程度高い温度変化を急激に受けたとき、合成が誘導されるタンパク質群。ストレスタンパク質とも呼ばれる。分子シャペロンとして機能する。

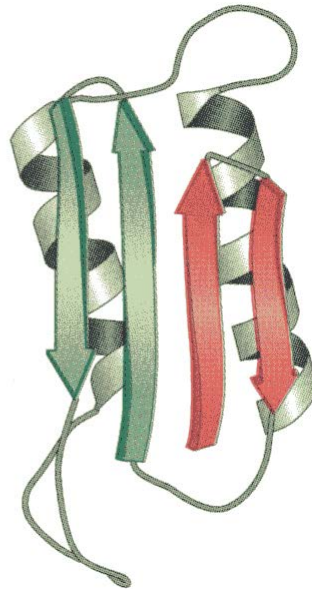
# タンパク質の折りたたみの誤り

## プリオン病

プリオンタンパク質  
PrPc



病原性プリオンタンパク質  
PrPsc



ミスフォールドしたタンパク質  
(PrPsc)が鋳型となって正常タンパク質 (PrPc) を病原性タンパク質 (PrPsc) へと連鎖反応的に変化させる



PrPscは会合し、不溶性の凝集体を形成

ヒト	クロイツフェルト・ヤコブ病 Creutzfeldt-Jakob disease
ヒツジ	スクレイピー scrapie
ウシ	ウシ海綿状脳症 bovine spongiform encephalopathy; BSE