

VaProS チュートリアル

構造解析を試みるタンパク質を結晶化する際に役立つ情報を抽出する

neuromedin U receptor 1 の結晶化を試みるとします。まず、“neuromedin U receptor 1”または “NMUR1”で keyword サーチすることからはじめます。

VaProS トップ画面 (<http://p4d-info.nig.ac.jp/vapro/>) にアクセスします。その後、Keyword の検索窓に neuromedin U receptor 1 と入力し、Search ボタンをクリックします。

neuromedin U receptor 1 に関連するヒトの 3 つのタンパク質の情報が出力されます。興味のある NMUR1 をクリックして Details (Go) ボタンをクリックします。

Hits	
Gene/Protein	8
Ligand	0
Phenotype	0

Gene/Protein results - hits: 8

Filtered by: Type: molecule type, Organism: organism, TrEMBL: TrEMBL

	Type	Name	Full Name	Organism	EntrezGene ID	UniProtKB	TrEMBL
<input checked="" type="checkbox"/>	gene/protein	NMUR1	Neuromedin-U receptor 1	Homo sapiens	10316	Q9H689	nm
<input type="checkbox"/>	protein	cDNA FLJ60151, highly similar ...	cDNA FLJ60151, highly similar ...	Homo sapiens		B4DTH8	ym
<input type="checkbox"/>	protein	cDNA FLJ56741, highly similar ...	cDNA FLJ56741, highly similar ...	Homo sapiens		B4DV09	ym
<input type="checkbox"/>	protein	Nmur1	Neuromedin-U receptor 1	Rattus norvegicus		F1LQC9	ym
<input type="checkbox"/>	protein	Nmur1	Neuromedin-U receptor 1	Mus musculus		G5E8T1	ym
<input type="checkbox"/>	gene/protein	Nmur1	Neuromedin-U receptor 1	Mus musculus	14767	Q55040	nm
<input type="checkbox"/>	gene/protein	Nmur1	Neuromedin-U receptor 1	Rattus norvegicus	65276	Q9J15	nm
<input type="checkbox"/>	gene	LOC100360024	neuromedin-U receptor 1-like	Rattus norvegicus	100360024		

VaProS 内の DB・ツールに遷移します。左のアイコンの並びの中の 3D Interaction をクリックします。3D Interaction ウィンドウが表示されます。そのウィンドウの一番左上にあるボタンをクリックするとウィンドウサイズが大きくなるので 3D Interaction の内容が見やすくなります。

The screenshot shows the VaProS interface with the 3D Interaction window open. The window title is "3D Interaction: Contact Bar(summary)[0.0 %]". It displays a protein sequence and a table of UniProt Feature Tables. The table shows regions and names for the protein structure.

region	name
1-426	CHAIN
1-65	TOPO I
66-86	TRANS
87-97	TOPO I
98-118	TRANS
119-138	TOPO I

ウィンドウサイズが最大化した 3D Interaction ウィンドウです。

Neuromedin U receptor 1 (NMUR1)にアミノ酸配列が類似のタンパク質で Protein Data Bank (PDB)に立体構造が登録されているものが、MONOMER の表に表示されます。初期状態では、似たホモログは代表だけが表示されます(summary)。すべての立体構造の一覧を見るために[bars (full)]をクリックします。

FID	QueryLength	Homologous Sequence in PDB	UniProt Query	TITLE
46651	426	196	NMUR1_HUMAN(Q9HER9)	RecName: Full=Neuromedin-U receptor 1; Short=NMU-R1; AltName: Full=G-protein coupled receptor 66; AltName: Full=G-protein coupled receptor FM-3.

region	name	description
1-426	CHAIN	Neuromedin-U receptor 1. /FTId=PRO_0000069906
1-65	TOPO_DOM	Extracellular
66-86	TRANSMEM	Helical; Name=1.
87-97	TOPO_DOM	Cytoplasmic
98-118	TRANSMEM	Helical; Name=2.
119-138	TOPO_DOM	Extracellular
139-161	TRANSMEM	Helical; Name=3.
162-181	TOPO_DOM	Cytoplasmic
182-202	TRANSMEM	Helical; Name=4.
203-235	TOPO_DOM	Extracellular
236-256	TRANSMEM	Helical; Name=5.
257-294	TOPO_DOM	Cytoplasmic
295-315	TRANSMEM	Helical; Name=6.
316-338	TOPO_DOM	Extracellular

MONOMERの表には、各登録タンパク質のPDB idおよびNMUR1とのアミノ酸配列一致度が出力されています。

pdb_id	asym_id	identity	description
4bw6	B	36.7	NTR1_RAI NEUROTENSIN RECEPTOR TYPE 1
4bw6	A	35.9	NTR1_RAI NEUROTENSIN RECEPTOR TYPE 1
4bu2	A	35.0	NTR1_RAI NEUROTENSIN RECEPTOR TYPE 1
3zev	A	35.0	NTR1_RAI NEUROTENSIN RECEPTOR 1 TM86V
4bv0	B	36.8	NTR1_RAI NEUROTENSIN RECEPTOR TYPE 1
4bu2	B	34.4	NTR1_RAI NEUROTENSIN RECEPTOR TYPE 1

MONOMERの表の下にHETEROの表があります。この表には、PDBに登録されているタンパク質が結晶構造中で他のタンパク質と複合体を形成している場合に、そのPDB idおよび複合体の相手の情報が出力されています。4grvをクリックします。

3D Interaction VaProS


426 chimera

HETERO

pdb_id	contact mol asym_id	description	homologue asym_id	SqID(%)
4bv0	C	NEUT RAT NEUROTENSIN/NEUROMEDIN N[7 aa]	A	37.1
4bv0	D	NEUT RAT NEUROTENSIN/NEUROMEDIN N[7 aa]	B	36.8
4bwb	D	NEUT RAT NEUROTENSIN[3 aa]	B	36.7
4bwb	C	NEUT RAT NEUROTENSIN[5 aa]	A	35.9
4xss	B	NEUT RAT Neurotensin/neuromedin N[6 aa]	A	35.3
4xss	B	NEUT RAT Neurotensin/neuromedin N[6 aa]	A	35.6
4grv	B	Neurotensin 8-13[6 aa]	A	35.0
4rvd	C	bifunctional peptide[5 aa]	B	33.4
4rvd	D	bifunctional peptide[5 aa]	A	33.9
4rwa	C	bifunctional peptide[5 aa]	B	34.8

選択したタンパク質-タンパク質複合体 (neurotensin receptor 1-neurotensin 8-13 複合体) について、複合体の分子構造、相互作用残基(Contact)そして二次構造(SecStr)の情報が得られます。contact sites ではこの複合体の結合に関与している残基が分かります。

Protein Model on 4grv_A_1_B_1 (TEMPLATE: PDB:4grv)



DOWNLOAD:
[\[sequence-replaced 3D model\]](#)
[\[3D template\]](#)
[\[Modeller script\]](#)

ALL MOLECULES IN THE BIOLOGICAL UNIT:
[\[assembly id:1\]](#)

sequence-replaced 3D model CurrentView:HTML5 Change to:[JAVA (faster than HTML5)] JSmol

model	mark	query	asym_id oper (auth_asym_id)	type	description	contact sites
1	a	A(NMUR1 HUMAN)	A 1 (A)	polymer(polypeptide(L))	Neurotensin rec eptor type 1, lysozyme chimera NTR1 RAT,LYS BPT4,NTR1 RAT	a(query A)
2	b		B 1 (B)	polymer(polypeptide(L))	Neurotensin 8-13	124N 125Y 138T 200H 207V 218V 219C 220M 316D 317R 320W 324S 326W 331H 334F 338H



```
MODEL[1] Protein A "queryA" TEMPLATE:4grv_A_1 SeqID=34.9%
queryA      63: ICATYLLIFVVGAVGNGLTCLVILRHK---AMRTPITNYLFLSLAVSDLLVLLVGLPLELYE-MHHNYPFLLVGGVGYFRTLLFEMVCLASVLNVLTALSVE: 158
           : * ** **** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
4grv_A_1    35: VTAIYLALFVVGTVGNSVTLFTLARKXXXXSLQSTVHYHLGSLALSDLLILLAMPVELYNF IWHHPWAFGDAGCRGYYFLRDACTYATALNVASLSVA: 134
           : HHHHHHHHHHHHHHHHHHHHS ---- HHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHH
ExpBur      : bbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeeb
Contact     :
           :                                     b  bb  b
queryA      159: RYVAVVHPLQARSMYTRAHVRRVLGAVWGLAMLCSPNLSLHGIRQLHVCPRGYPVDSAVCMLYRPRALYNMVTQTALLFFCLPMAIMSVLYLLIGLRRL: 258
           : * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
4grv_A_1    135: RYLAICHPFKAKTLMRSRRTKFI SA IWLASALLAIPMLFTMGLQ--NRSADGTHPGGLVCTPIVDTATKVV I QVNTFMSFLFPMVIS I LNTV I ANKL: 232
           : HHHHHSIIIIIIII S HHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHH
ExpBur      : beebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeeb
Contact     :
           :                                     b  b  bbb
queryA      259: RRERLLLQCEAKGRGSAARSRYTORLQOHDGRRRQVTKMLFV-----: 301
4grv_A_1    233: -----TVMNIFEMLRIDEGLRLKIYKDTGGYYTIGIGHLLTKSPSLSNAKSELDKXXXRNT: 289
           : -----HTS THHHHHHT EEEEE TTS EEEETTE SSSHHHHS ---
ExpBur      : -----eeebbbbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeeb
queryA      -1: -----: -1
4grv_A_1    290: NGVITKDEAEKLFNQDVAAVRGILRNAKLKVYDSDLAVRRAALINMVFQMGETGVAGFTNSLRMLNKRWDEAAVNLAKSRWYQTPNRAKRVITTFR: 389
           : TTB HHHHHHHHHHHHHHHHH TTHHHHS SHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHH
ExpBur      : ebeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeeb
queryA      302: -----LWVFGICWAPFHADRVMSVVS--QWTDGLHLAFQHVHVISGIFFYLGSAANPVLVSLMSSRFRE: 365
           : * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
4grv_A_1    390: TGTWDAYSGSGVQALRHGVLVARA-VYIAFVVCWLPYHVRRLMFCYISDEQWITFLFDYHYFYMLTNALAYASSAINPILYNLVSANFRQ: 479
           : HSSSGGTTSTTT HHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHH
ExpBur      : eebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeebbeeb
Contact     :
           :                                     bb b b b b b b b
```

HETERO の表の下に COMPOUND の表があります。この表には、PDB に登録されているタンパク質が結晶構造中で低分子と複合体を形成している場合に、その PDB id および低分子の情報が出力されています。2rh1 をクリックします。

COMPOUND の表の下には METAL の表があります。この表には、PDB に登録されているタンパク質が結晶構造中で金属(イオン)と複合体を形成している場合に、その PDB id および低分子の情報が出力されています。

426		contact mol		homologue	
pdb_id	asym_id	description	asym_id	SolD(%)	description
	R	NA • SODIUM ION(1 atoms)	B	29.6	ADRF1_MELGA_BETA-1 ADRENERGIC RECEPTOR
	T	NA • SODIUM ION(1 atoms)	B	29.6	ADRF1_MELGA_BETA-1 ADRENERGIC RECEPTOR
	E	NA • SODIUM ION(1 atoms)	A	28.9	LYS_RPT4 ADRF2_HUMAN ADRF2_HUMAN Lysoczyme_Beta-2 adrenergic receptor
	K	NA • SODIUM ION(1 atoms)	B	29.6	ADRF1_MELGA_BETA-1 ADRENERGIC RECEPTOR
	C	NA • SODIUM ION(1 atoms)	A	25.3	AA2AP_HUMAN CBX2_ECOLX AA2AP_HUMAN Adenosine receptor Acta/Soluble cytochrome b562 chi
	C	NA • SODIUM ION(1 atoms)	A	30.1	ADRF1_MELGA_BETA-1 ADRENERGIC RECEPTOR
	C	NA • SODIUM ION(1 atoms)	A	28.9	D8RF7_RPT4 ADRF2_HUMAN_Beta-2 adrenergic receptor
	J	NA • SODIUM ION(1 atoms)	B	28.3	ADRF1_MELGA_BETA-1 ADRENERGIC RECEPTOR
	D	NA • SODIUM ION(1 atoms)	A	29.1	ADRF1_MELGA_BETA-1 ADRENERGIC RECEPTOR
	D	NA • SODIUM ION(1 atoms)	A	29.5	ADRF1_MELGA_BETA-1 ADRENERGIC RECEPTOR
	B	NA • SODIUM ION(1 atoms)	A	29.9	ADRF1_MELGA_BETA1 ADRENERGIC RECEPTOR

上記の検索により、neuromedin U receptor 1 に関連するタンパク質の Protein Data Bank 登録情報について以下の情報が得られました。NMUR1 の配列類似タンパク質の PDB 登録情報の表から、これらのタンパク質に結晶構造中結合している低分子や金属イオンの出現頻度の情報が得られ、目的タンパク質(NMUR1)の結晶化条件の参考になると期待されます。

- NMUR1 それ自身の結晶構造は Protein Data Bank に登録されていないが、NMUR1 にアミノ酸配列が 30%以上一致するタンパク質の結晶構造が(少なくとも)4 つ登録されている。
- そのうち、NMUR1 に配列が 30%一致する neurotensin receptor 1 (NTR1)の結晶構造は PDB ID が”4grv”で登録されている。
- この結晶構造”4grv”において、NTR1 は neurotensin 8-13 に結合しており、その結合に関与している残基は N124, Y125, T138, H200, V207, V218, C219, M220 である。
- NMUR1 と NTR1 のアミノ酸配列アラインメント、NTR1 の 2 次構造情報が得られる。
- NMUR1 と似た配列をもつタンパク質の結晶構造中、タンパク質に結合している低分子の出現頻度が得られる。これは結晶化に有効な界面活性剤や添加剤の傾向を示している。

- 9回 [2CV]HEGA-10
- 7回 [HTO]HEPTANE-1,2,3-TRIOL
- 4回 [CLR]CHOLESTEROL
- 3回 [BGL]SUGAR (B-2-OCTYLGLUCOSIDE)
- 3回 [PEF]DI-PALMITOYL-3-SN-PHOSPHATIDYLETHANOLAMINE
- 2回 [BNG]SUGAR (B-NONYLGLUCOSIDE)

- NMUR1 と似た配列をもつタンパク質の結晶構造中、タンパク質に結合している金属の出現頻度が得られる。これは結晶化に有効な金属イオンや位相決定のための重原子の情報となる。

- 8回 [ZN]ZINC ION
- 2回 [HG]MERCURY (II) ION
- 2回 [CL]CHLORIDE ION
- 2回 [NA]SODIUM ION

以上