VaProS チュートリアル

インスリン受容体のリガンド結合と病気に関連する残基を調べる

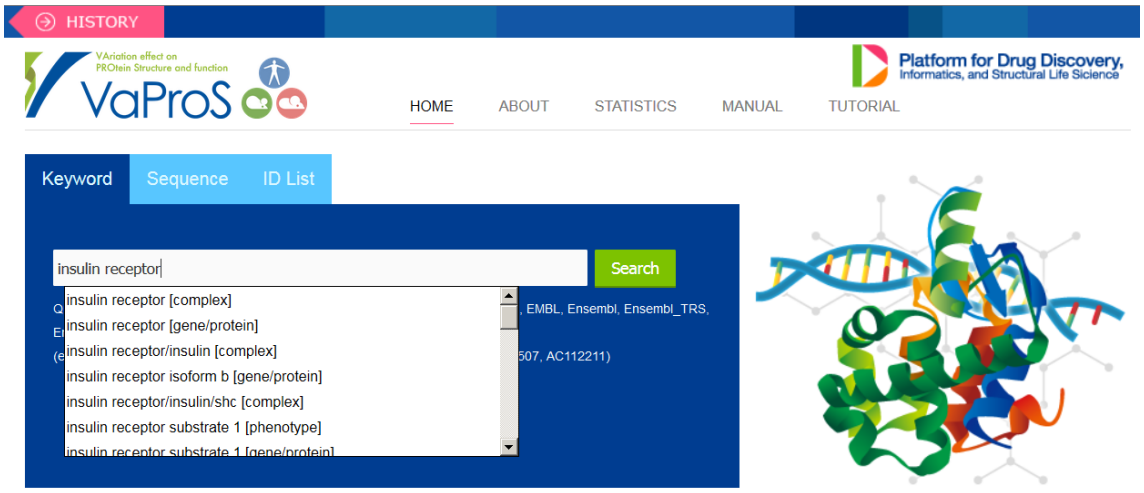
概要

2013 年に、インスリンーインスリン受容体複合体の結晶構造が報告されました（JG Menting et al. Nature 493, 241-245 (2013) doi:10.1038/nature11781）。この複合体構造を利用して、リガンド結合に関与するアミノ酸残基および糖尿病との関連が示されているアミノ酸残基について調べます。

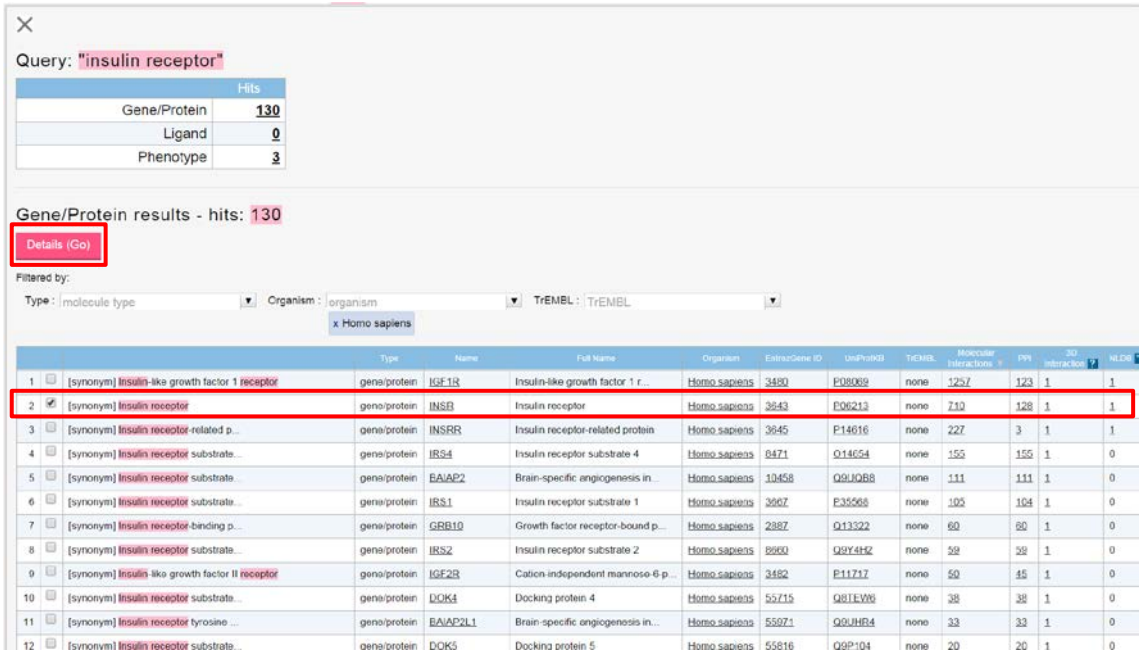
解説

“insulin receptor”で keyword サーチすることからはじめます。

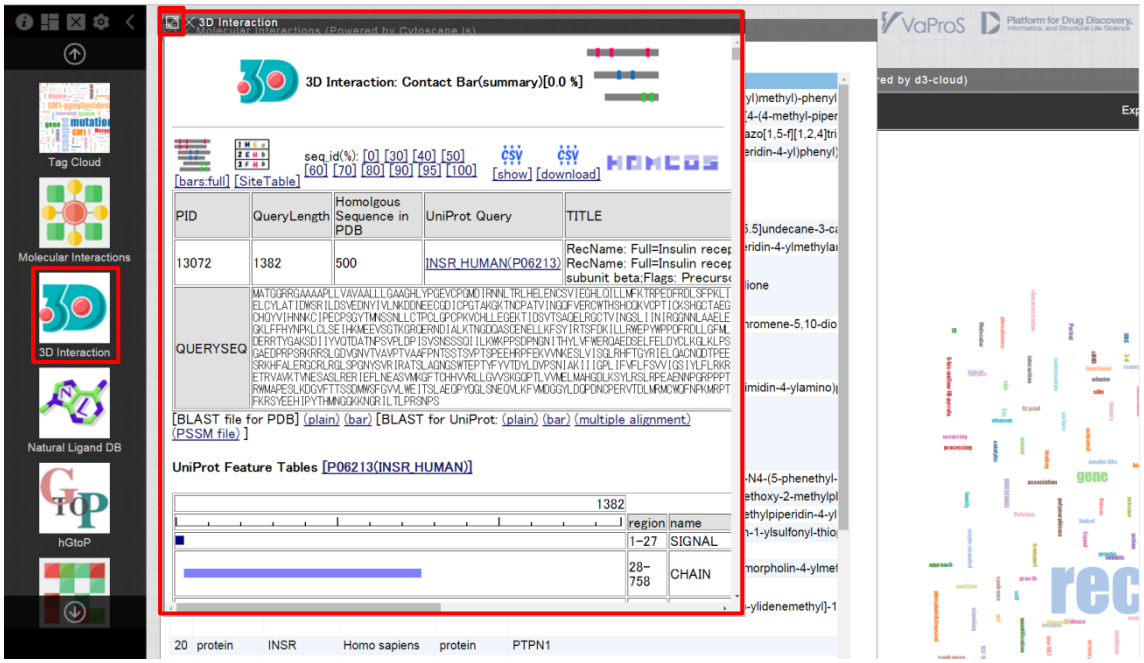
VaProS トップ画面（http://p4d-info.nig.ac.jp/vapros/）にアクセスします。その後、Keyword の検索窓に insulin receptor と入力し、Search ボタンをクリックします。



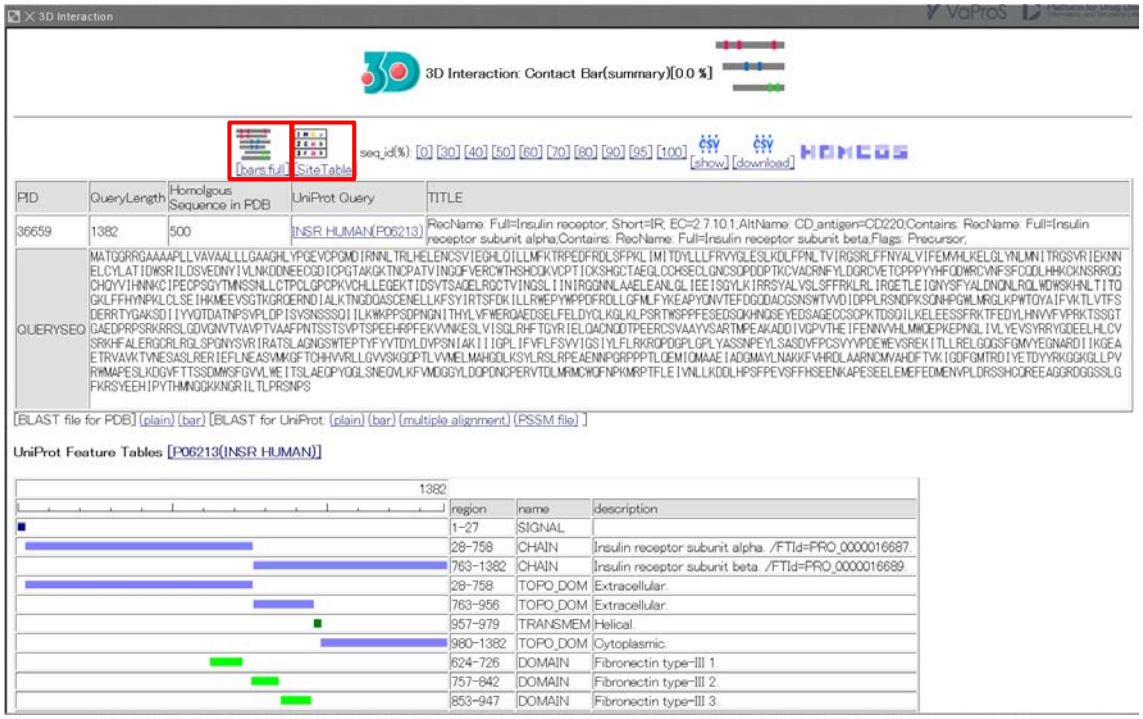
insulin receptor に関連するヒト、マウス、ラットのタンパク質や遺伝子の情報が出力されます。興味のある INSR, insulin receptor, Homo Sapiens の行にチェックを入れて, Details（Go）ボタンをクリックします。



その操作により VaProS 内の DB・ツールに遷移します。下図の左のアイコンの並びの中の 3D Interaction をクリックするとその右側の領域に 3D Interaction ウインドウが現れます。そのウインドウの一番左上にあるボタンを押すとウインドウサイズが大きくなり見やすくなります。

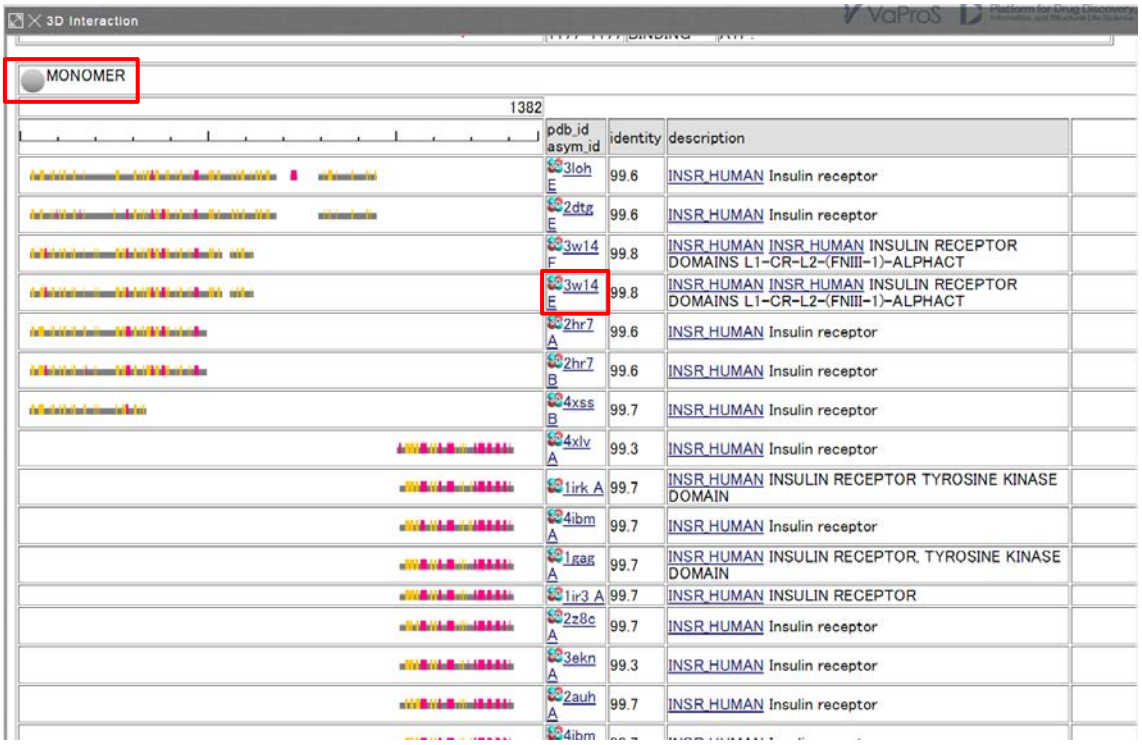


以下、ウインドウサイズを最大化した 3D Interaction ウインドウです。
insulin receptor (INSR)にアミノ酸配列が類似のタンパク質で Protein Data Bank (PDB)に立体構造が登録されているものが、MONOMER の表に表示されます。初期状態では、似たホモログは代表だけが表示されます(summary)。すべての立体構造の一覧を見るために[bars (full)]をクリックします。

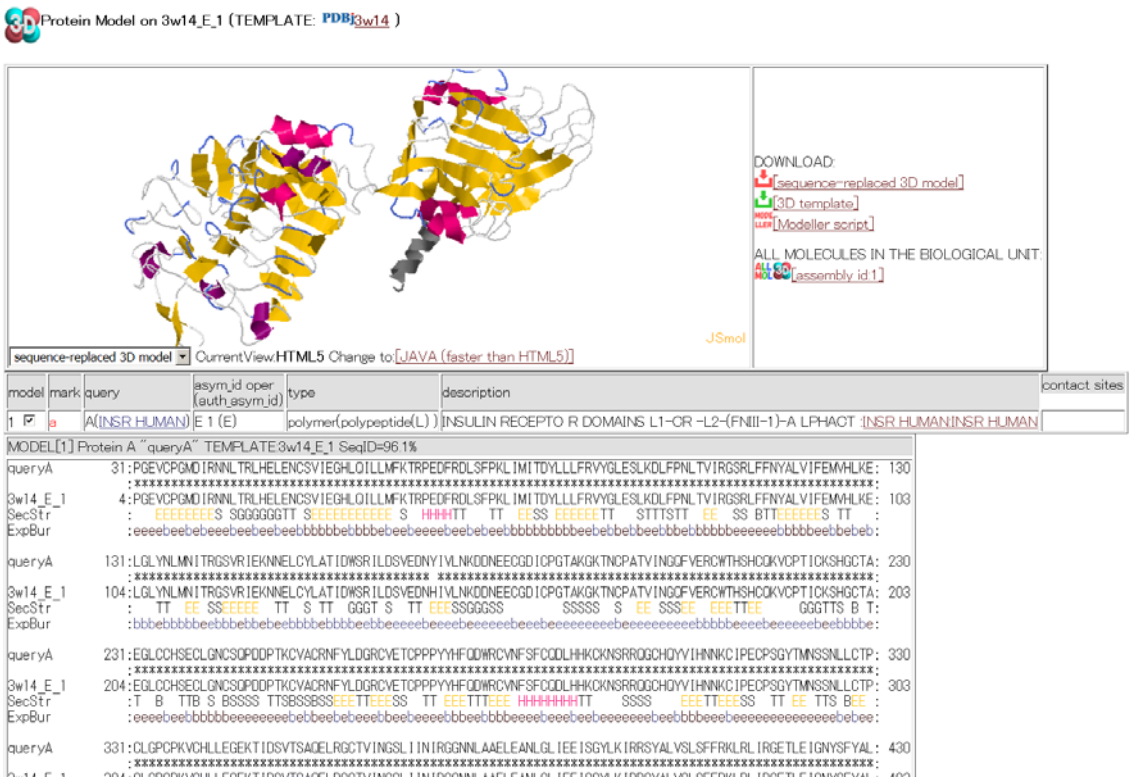


下方にスクロールすると MONOMER の表が現れます。この表をみると、インスリン受容体の細胞外リガンド結合ドメイン(バーが左寄りのもの)についていくつかの長さの結晶構造が解かれていること、また細胞内チロシンキナーゼドメインの結晶構造も複数報告されていることが分かります。

PDB id: 3w14 が目的のインスリンーインスリン受容体(細胞外ドメイン)複合体構造です。chains E と F がホモ 2 量体を形成していますが、インスリン(chains A と B)認識の仕方は chains E と F で異なります。まず 3w14 E をクリックします。



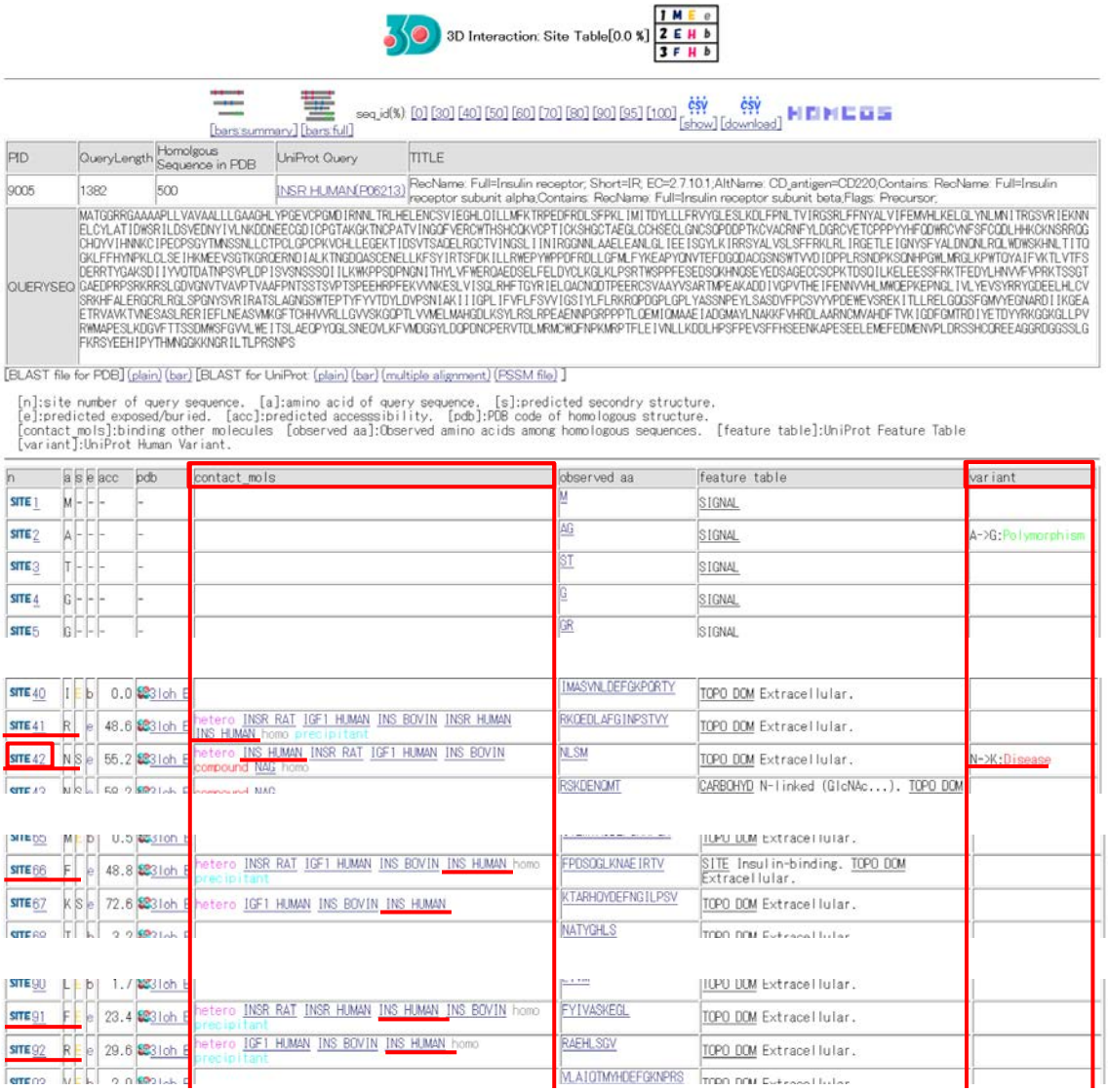
3w14 の chain E の立体構造と二次構造（赤：α ヘリックス、黄：β ストランド）が示されています。



3D interation のトップ画面に戻り[Site Table]をクリックして、各アミノ酸残基に関する情報を表示させます（下図参照）。各アミノ酸残基について、左から、残基番号、アミノ酸の種類、二次構造情報、溶媒露出度、PDB 登録情報、類似タンパク質における置換例が書かれています。また、contact mols にはその残基への結合が見られた化合物の情報が、feature table にはその残基の機能が、variant にはその残基に見られる点変異例とが書かれています。この点変異が病気に関連している場合はそのことも書かれています。

contact mols から、R41 と N42 がインスリン A 鎖の認識に、N42, F66, K67, F91, R92, E124 がインスリン B 鎖の認識に関わっていることが分かりました。

variant からインスリン受容体全体で、45 残基の点変異が病気と関連付けられており、そのうち 28 残基が細胞外ドメインに、17 残基が細胞内ドメインにあることが分かりました。例として、SITE 42 をクリックしてみます。



インスリン受容体（PDB id: 3w14）の chain E の N（アスパラギン）42 に関する情報をまとめたページです。Rabson-Mendenhall syndrome（インスリン受容体異常症の一種で、高度のインスリン抵抗性を呈す）の患者では、このアミノ酸残基が K（リジン）に置換されていることが分かります。3D Complex Information に示された情報から、このアミノ酸残基は、α2β2 ヘテロ 4 量体構造をもつインスリン受容体の細胞外ドメイン（α）のホモ 2 量体化に寄与するとともに、リガンドであるインスリンの A 鎖にも B 鎖にも結合する重要なアミノ酸残基であることがわかります。このため、N42→K の点変異により、インスリン受容体の立体構造やリガンド認識に異常が生じた可能性が高いと考えられます。同様に、他のアミノ酸残基の重要性も調べることができます。

SITE Summary for the 42-nd Site(N)

PID	QueryLength	FocusSite	TITLE
9005	1382	42 N	RecName: Full=Insulin receptor; Short=IR; EC=2.7.10.1;AltName: CD_antigen=CD220;Contains: RecName: Full=Insulin receptor subunit alpha;Contains: RecName: Full=Insulin receptor subunit beta;Flags: Precursor;

UniProt Information

AC/ID	AC:P06213 ID:INSR_HUMAN
Feature Table for 42-th site	VARIANT: N -> K (in RMS; impairs transport to the plasma membrane and reduces the affinity to bind insulin). {ECO:0000269|PubMed:2121734, ECO:0000269|PubMed:2365819}. /FTId=VAR_004079. STRAND: {ECO:0000244|PDB:2HR7}. COMPBIAS: Leu-rich. CHAIN: Insulin receptor subunit alpha. /FTId=PRO_0000016687. TOPO_DOM: Extracellular. {ECO:0000305}.
VARIANT for 42-th site	N->K Disease dbSNP:- Rabson-Mendenhall syndrome (RMS) [MIM:262190]

Evolutionary Information

Percentage of Amino Acids in Homologous Protein
N:58% L:23% S:14% M:5%

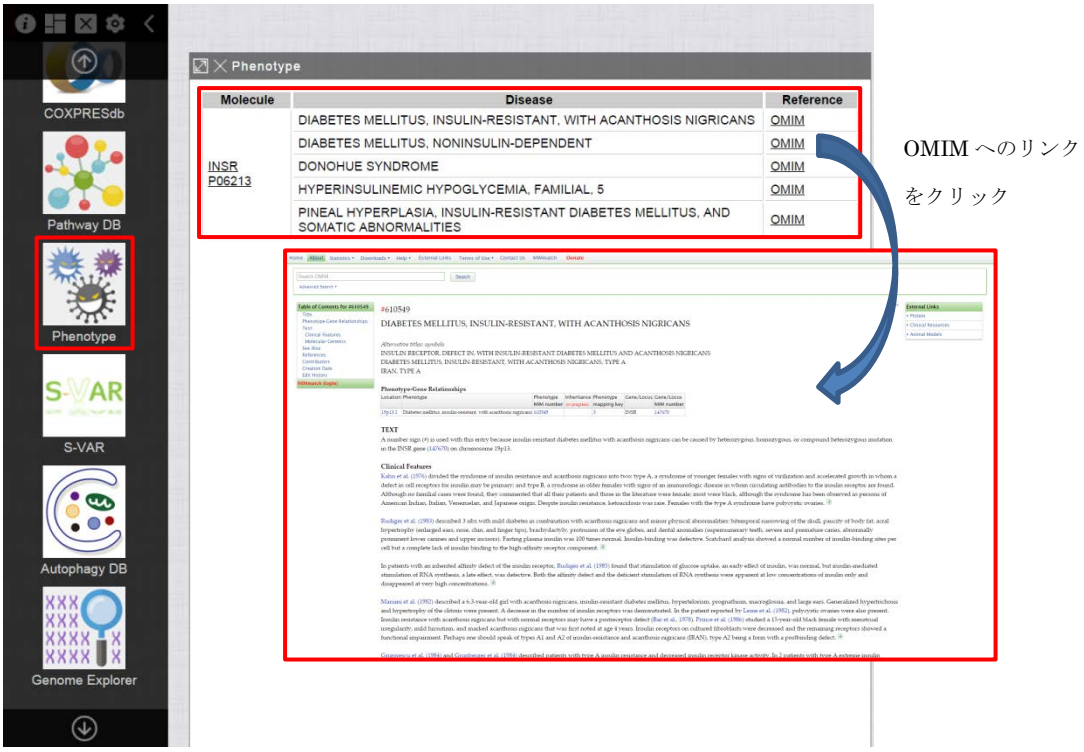
3D Structure Information

Template For Monomer	predicted SecStr	predicted ExpBur	Predicted Relative Acc(%)
3loh	S (*bend*)	e (*exposed*)	55.2

3D Complex Information

Predicted Bind Molecules
hetero:22 homo:1 compound:1
Templates for 3D complexes
hetero [42984:INSR_RAT] 4xst_A_6_B_6 4xst_A_5_B_5 4xst_A_4_B_4 4xst_A_2_B_2 4xst_A_3_B_3 4xst_A_1_B_1 [32325:INS_HUMAN] 3w13_A_1_E_1 3w11_E_1_B_1 [10543:IGF1_HUMAN] 4xss_B_4_A_4 4xss_B_6_A_6 4xss_B_5_A_5 4xss_B_2_A_2 4xss_B_1_A_1 4xss_B_3_A_3 [2251:INS_HUMAN] 4oga_E_1_B_1 [3730:INS_BOVIN] 3w14_F_1_G_1 3w14_F_2_G_2 3w12_A_1_D_1 3w11_E_1_A_1 3w14_E_2_A_2 3w14_E_1_A_1 3w13_A_1_D_1 homo [11321:INSR_HUMAN] 2hr7_A_1_B_1 compound [NAG] 2hr7_A_1_C_1

3D Interaction タブから Phenotype タブに移動すると、このタンパク質が関与している疾患が表示されます。Reference の OMIM をクリックすると、ヒトの遺伝子と遺伝病のオンラインカタログである OMIM（Online Mendelian Inheritance in Man）のページが開き、その疾患に関する説明を読むことができます。



上記の検索により、insulin receptor について約 10 分で、以下の情報を得ることができました。

- 現時点での Protein Data Bank への立体構造登録状況（長さの異なる細胞外ドメインの構造数種と、細胞内チロシンキナーゼドメインの構造が多数登録されていること）
- リガンド認識残基の情報（R41 と N42 の 2 残基がインスリン A 鎖の認識に、N42, F66, K67, F91, R92, E124 の 6 残基がインスリン B 鎖の認識に関わること）
- 点変異と疾患との関連（45 残基の点変異が疾患と関連付けられている。このうち 28 残基は細胞外ドメイン、17 残基は細胞内ドメインに位置すること）

以上