

AlphaFold3構造解析演習

ソフトウェア・材料

- AlphaFold 3 (<https://alphafoldserver.com/about>) *Googleアカウントが必要
- ChimeraX (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimerax/>) *あらかじめダウンロード
- Pknp-1 HMA domain + AvrPknDの結晶構造 (PDB: 6g10)

AlphaFold3によるタンパク質構造予測手順

- Sensor NRC0とHelper NRC0の多量体構造予測
 1. AlphaFold serverにgoogleアカウントでログイン。
 2. Molecule type > protein
 3. Copies > 5
 4. Paste sequence or fasta > アミノ酸配列をペースト
 5. "Continue and preview job"を押す。
- Pknp-1/AVR-pknCとPknp-1/AVR-pknDの結合予測
 6. AlphaFold serverにgoogleアカウントでログイン。
 7. Molecule type > protein
 8. Copies > 1
 9. Paste sequence or fasta > アミノ酸配列をペースト
 10. "Continue and preview job"を押す。
 11. 得られた構造予測データをダウンロード。

ChimeraXによるタンパク質構造解析手順

1.

Pknp-1/AVR-PknCとPknp-1/AVR-PknDの比較

2. ドラッグ & ドロップで2つの構造予測データ (.cif) をChimeraXで開く
3. Home> Background> White
4. Graphics> Lightning & Effects> Flat
5. Tools> Structure Analysis> Matchmaker
6. Apply> OK
7. #Chainに基づき色を変える
 - color #1/A #0067f47f
 - color #2/A #28cd413f
 - color #1/B #ff950081
 - color #2/B #ff950081
8. #HMAドメイン以外の色を薄くする
 - color #1/B: 1-185, 264-1142 #ff950019
 - color #2/B: 1-185, 264-1142 #ff950019

9. #水素結合を表示する
 hbonds (#1/a & protein) restrict (#1/b & protein) distslop .2 reveal t rad .1 color gold log true
 hbonds (#2/a & protein) restrict (#2/b & protein) distslop .2 reveal t rad .1 color gold log true
 #distslop .2; 距離許容値±0.2 Å
 #reveal t; 全ての水素結合原子を表示
 #rad; 水素結合を示す擬似結合に使用するÅ単位の半径
10. #水素結合に関わるアミノ酸を表示する
 cartoon supp f
11. #元素の色を変更する color
 byhet
 #赤; 酸素, #青; 窒素, #黄; 硫黄
12. #水素結合の領域をズームインする view
 hbondatoms clip false
13. #水素結合にラベリングする
 la hbondatoms residues font "Arial" height 1 bg 20,20,20
14. データ保存
 File > Save > 保存フォルダ指定 > .cxsを指定
15. 画像保存
 File > Save > 保存フォルダ指定 > .pngを指定
16. Pikp-1/AVR-PikDのAF3予測構造と結晶構造の比較
17. #PDBから構造を読み込む open
 6g10
18. #Chainに基づき色を変える color
 #3/A #ff950081
 color #3/B #ff950081 color #3/C
 #28cd413f
19. Tools> Structure Analysis> Matchmaker
20. Reference structure; AF3予測構造
21. Apply> OK
22. データ保存
 File > Save > 保存フォルダ指定 > .cxsを指定
23. 画像保存
 File > Save > 保存フォルダ指定 > .pngを指定

応用編

疎水性相互作用 (特にファンデルワールス結合) の検出

1. `contacts #1/A@C* restrict #1/B@C* distanceOnly 3.8 reveal true name vdW log true`

- ChimeraXでは非極性相互作用を簡単に決定する方法はないので、手動で行う。ほとんどのファンデルワールス (vdW) 相互作用は、関係する原子の大きさにもよるが、2-4 Åの範囲である。そこで、3.8 Åの距離にあるリガンドとタンパク質の間のすべての結合を表示する
- 3.8 Åという数字は任意なので、変更してもよい。3.8を使っても結果が得られない場合は、もっと大きな数字にする (4.0 Åや4.2 Åも妥当である)
- C*は"すべての炭素原子"を意味する。つまり、"鎖A, B間の炭素の3.8 Åの距離の接触をすべて表示する"という意味になる

全てのコンタクトの検出

1. `contacts ignoreHiddenModels true log true`

2. Contactsの中からnon-polar interaction (vdW, π - π) を見つける

Molecular displayの変更

- Molecular display> Coloring> Electrostatic> Right mouse> Clip
- Molecular display> Coloring> hydrophobic> Right mouse> Clip