

「EM Navigator」と 「Yorodumi (万見)」で 3次元構造を眺める

鈴木博文
大阪大学 蛋白質研究所・PDBj

PDBj講習会
2009-08-07
東京大学駒場キャンパス

概要

- 「EM Navigator」と「Yorodumi」というウェブサイトの紹介
- これらのウェブサイトを使って生体分子・組織の「3次元構造を眺めること」を体験
- 想定する聴衆：構造研究の経験がない・少ないユーザー
- 講義と実習を同時進行
(プログラムには30分・30分と記載したが)

実習1:

EM Navigatorを開いてみる

目的：何はともあれ、さわってみる

EM Navigatorのトップページを開く

手順：キーワード「em navigator」でWeb検索
または、PDBjトップページ左フレームのEM Navigatorへのリンクをクリック



EM Navigatorとは？

チェック

- ページ全体
英語版と日本語版がある、今回は日本語で利用
- ページ上「検索」
データベースサイトによくある検索機能
- ページ中「ムービースロット」
EM Navigatorの最大の特徴はこれらのムービー
- ページ下「EM Navigator とは？」

「生体分子や生体組織の**3次元電子顕微鏡**データを、気軽にわかりやすく眺めるためのウェブサイトです
EMDB と **PDB** のデータを利用しています」

講義1:

「3次元電子顕微鏡」ってなに？

なぜ電子顕微鏡？

「生命のカラクリ」を直接見たい！

- 生命現象の担い手（生体組織・生体分子）はとて小さい
- 「光」では見ることができない（分解能は100nm程度）
- 「電子線」なら原子も見える（原理的には1Åよりも高分解能）

「光」を「電子線」におきかえた顕微鏡
→ 電子顕微鏡 (Electron Microscopy: EM)

電子顕微鏡ってなに？



電子顕微鏡（電顕）
 透過型電子顕微鏡（「影絵」を見るタイプ）
 分子・原子レベルの分解能・定量性
 ブラウン管にも似ている

問題点とその解決策（その1）

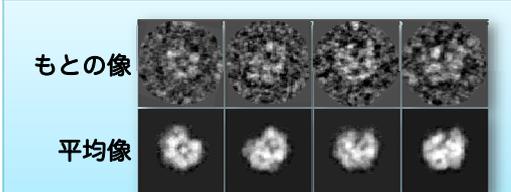
問題点1：2次元（投影像）なのでわかりにくい
解決策：多方向から見た像を使って計算機中で3次元再構成



投影 と 逆投影

問題点とその解決策（その2）

問題点2：ノイズが強くてよく見えない
解決策：多数の像を平均または、フィルタ処理



もとの像
平均像

負染色した クランプはめ込み複合体

欠点 と 利点

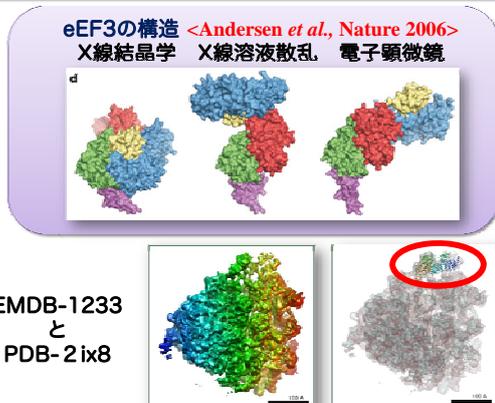
欠点：分解能が低い
 「3次元化」と「ノイズ低減」で分解能が犠牲

利点：「生き生きとした」姿を見ることが出来る
 試料調整のハードルが低い（一般に）
 コンピュータの中での「抽出・精製」も可能な試料が得意

X線結晶学・NMRとは真逆で相補的

「生き生きとした」構造

eEF3の構造 <Andersen *et al.*, Nature 2006>
 X線結晶学 X線溶液散乱 電子顕微鏡



EMDB-1233 と PDB-2ix8

まとめ

電子顕微鏡：

光の代わりに電子を使った顕微鏡

3次元電子顕微鏡：

電子顕微鏡像から3次元構造を得る手法

欠点と利点：

分解能は低いが、
「生き生きとした」構造を見ることができる

13

実習2:

PDBとEMDBのデータを見てみる

目的：まずは見ておく

14

PDBデータの詳細ページをひらく

手順1：トップページ→検索 →
「全データ」の「PDB」をクリック
→ PDBエントリのリストページへ

手順2：適当なエントリの画像の部分
をクリック
→ そのエントリの詳細ページへ



詳細ページ

15

PDBのデータを見る

チェック

- ページ上部：タイトルなど
- ページ左上：分子構造の画像
「jV」「Jmol」のボタンを押すと画像がビューアになる
(Jmolは、jVと似たオープンソースの分子構造ビューア)
- ページ左下：詳細情報のナビゲーションパネル
- ページ右側：詳細情報
xPSSSの詳細ページと同じ趣旨だが、
電顕データ特有の付随情報（解析手法など）を表示
関連するエントリを画像付きで表示
(電子顕微鏡データの事情)

16

EMDBのデータを見る

手順1：トップページ→
EMDB ID / PDB IDの入力ボックス
にIDを入力し「Go」をクリック

IDの例：1155, 1542, 1604



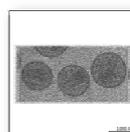
EMDB-1542

EMDB-1155

EMDBのデータを見る

チェック

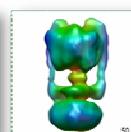
- ページ全体
PDBデータのページとほぼ同じ
- ムービー
クリックで再生、スライダーでシーク、回転し、断面表示
「ムービー」の画像クリックで、ムービーの種類が切り替わる
- ムービーにはいくつかの種類がある
グレーの半透明のもの、単色・グラデーションの表面図、
原子モデルとの重ね合わせ



EMDB-1155

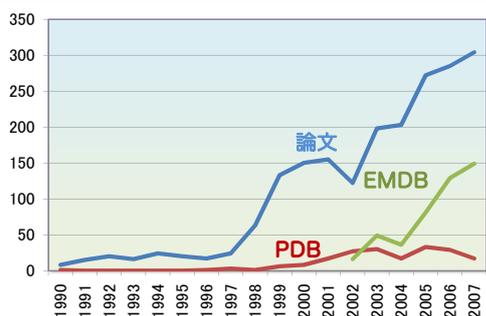


EMDB-1542



EMDB-1604 18

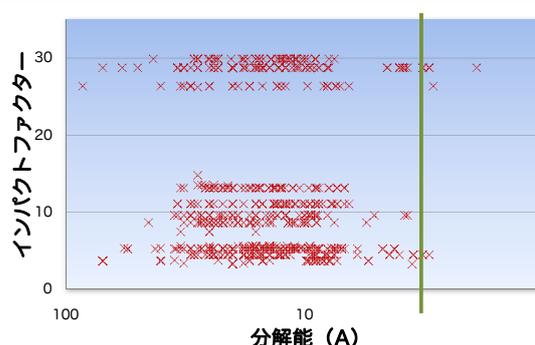
データ数の推移



低温電顕の論文数 (Pubmed)
PDBの電顕データの登録件数
EMDBの登録件数の推移

25

分解能と注目度の関係



3次元電顕による研究成果は、
分解能に関係なくトップジャーナルに掲載

26

やっぱり原子モデルがほしい

高分解能 (~4 Å 以上) の場合

原子モデルの直接構築が可能
(アミノ酸配列・立体化学などの情報を利用)

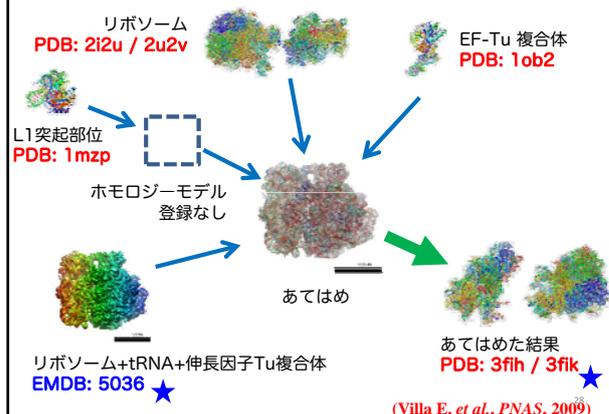
低分解能の場合

原子モデルの直接構築は不可能
既知の原子モデルを使えば、限定的には可能
(原子モデルのあてはめ)

PDBには、両タイプのデータが登録されている

27

ハイブリッド構造解析とデータベース



まとめ

- EMDは3次元電子顕微鏡データのデータベース
- PDBの主データが**原子座標**であるのに対し、EMDBでは「**3次元マップ**」が主データ
- 登録数は上昇トレンドで、低分解能でも注目すべきデータもある
- 低分解能データでも、ハイブリッドな手法で原子モデルの構築が可能

29

実習3：

ファージ尾部の構造変化を見る

目的：ムービーで構造を比較してみる

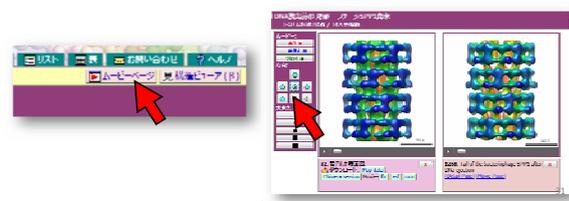
30

ムービーページ

ムービーページ:

詳細ページよりも高解像度のムービーが見られる
他のエントリのムービーとの比較も可能

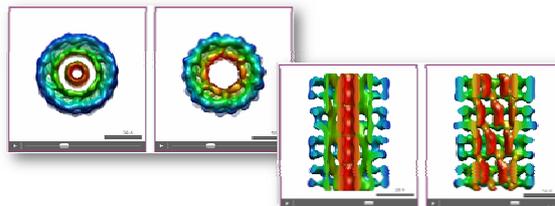
- 手順1:** EMDB-1267の詳細ページで、「ムービーページ」というリンクをクリック → **ムービーページが開かれる**
手順2: ページ下部、ムービーの追加パネル、関連するデータの[1268]ボタンをクリック → **箱の中に画像が出てくる**
手順3: カラフルな方をクリック → **新しいムービーが出てくる**
手順4: ページ左側のコントロールパネルで、見る方向を選択し、観察



ファージ尾部の構造変化

チェック

- **ムービー**
ムービーのコントロールパネルでは、再生や一時停止のほかに見る方向や、ムービーのサイズを操作できる
- **ファージ尾部の構造比較**
外から見てもよく分からないが、上から見たり断面を見たりすると、中心部分の構造変化がよく分かる



講習3:

Yorodumi (万見) ってなに?

33

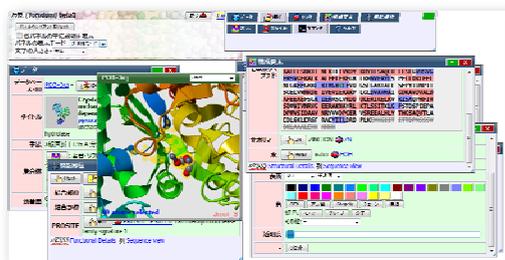
Yorodumiってなに?

- 3次元構造ビューア
(今流行りのウェブアプリ)
- EM Navigator から派生
- PDBとEMDBのほとんどの構造を見られる
- 実験的なウェブサイト
(実験段階というより、存在自体が実験)
- 教育目的には有用かも?
(たぶん、楽しい)

34

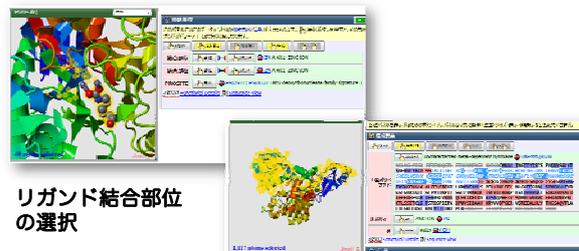
類似するサイトとの違い

- **豊富な機能**
(多くの機能を詰め込むためのユーザーインターフェース)



多数のパネル・自由なレイアウト
マウス操作でウィンドウのように移動・表示・非表示が可能

類似するサイトとの違い

データベースの付随情報と運動
(アミノ酸配列・リガンド結合部位情報など)

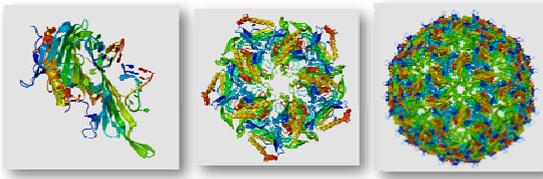
リガンド結合部位
の選択

アミノ酸配列で選択

PDB-3icj

類似するサイトとの違い

- 集合体構造を簡単に表示
Biological assembly (生物学的集合体) 等の集合体構造



非対称単位 5重体 完全な正20面体
対称構造

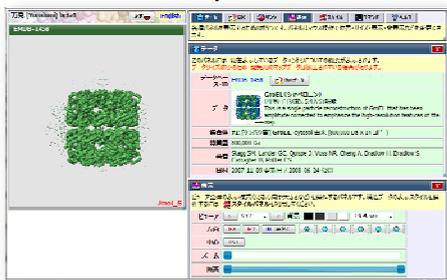
PDB-2iz8: ウイルスカプシド

実習4：
Yorodumi (万見) を使ってみる

Yorodumi (万見) をひらく

手順：EM Navigatorトップページ・ムービースロットの
構造ビューアというリンクをクリックする

見構造ビューア (R)



Yorodumi (万見) を使ってみる

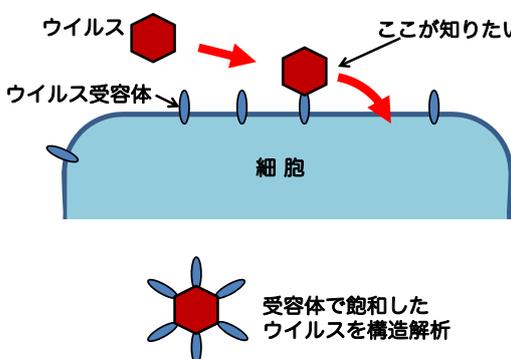
チェック

- ビューアはjVとJmolを選択可能
ただし、jVへの対応度は限定的、今日の実習ではJmolを使用
- ページ左上のパネルに設定ボタン
「シンプル」と「多機能」のモードがある、今日は「多機能」で
- 右上のパネルのボタンで各種パネルを呼び出す
Windowsのタスクバー、MacのDockのようなもの
- 設定や、レイアウトはブラウザに保存される(クッキー)
別のデータを読み込んでも、レイアウトと設定は維持される
- 別のデータを開くには「開く」パネル
IDを入力したり、ランダムに選択したり

実習5：
ウイルスの細胞侵入の
メカニズムを見る

目的：EMDBとPDBのデータを見比べる

ウイルスと受容体の構造解析



ウイルス ここが知りたい!
ウイルス受容体 細胞

受容体で飽和した
ウイルスを構造解析

ポリオウイルスの例

EMDB-1562

原子モデルを重ねたムービー

YorodumiでPDB-3epdを表示

Nectin-like protein (受容体) を選択

コクサッキーウイルスの例

EMDB-1562

Yorodumi PDB-1z7z

完全な正20面体集合体を表示し、受容体を選択

実習6：

タバコモザイクウイルス (TMV) のRNAの配置を見る

目的：これまでの応用

TMVのらせん対称集合体の構造

手順

- YorodumiでPDB-2tmvを開く
→TMVの非対称単位の構造が表示される
- データパネル・集合体・1-らせん集合体のボタンを押す
→らせん集合体の構造が表示される
- スタイルパネル・選択・「タンパク質」ボタンを押し、色・紫色のボタンを押し、透明度のスライダーをいちばん右へ移動
→タンパク質部分が半透明の紫色になる
- スタイルパネル・選択・DNA/RNAを押し、原子・「空間充填」ボタンを押し、色・虹色・「グループ」ボタンを押す
→RNAが目立つ
- 選択リセットボタンを押し、選択状態をリセット

TMVのらせん対称集合体の構造

チェック

- らせん対称性をもった集合体の構造
- TMVのRNAの配置を見る

PDBjの「今月の分子」の「タバコモザイクウイルス」のページ参照
http://eprorts.pdbj.org/mom/mo109_ja.html

実習7：

F1-ATPaseのADP結合部位を見る

目的：基質結合部位の表示方法

F1-ATPaseのADP結合部位

手順

- YorodumiでPDB-1h8eを開く
→F1-ATPaseの構造が表示される
- 機能部位パネル・中心ボタンを押し、いずれかのADPの結合部位のボタンを押す
→ADP結合部位が選択され、中心に移動する
- 表示パネル・ズームスライダーと断面スライダーを調節し、結合部位がよく見えるようにする
- スタイルパネル・チェーン・「カートゥーンとB&S」ボタンを押す
→結合部位の側鎖が表示される
- ダブルクリックで任意の原子間の距離を測定する、など

49

F1-ATPaseのADP結合部位



50

付 録

51

必要な環境

モダンなブラウザ

Internet Explorer 7以上、Firefox 2以上、Opera 9以上、Safari 3以上、Google Chrome

モダンなハードウェア

ネットブックでも十分利用可能だが、グラフィック性能の高いPCが望ましい

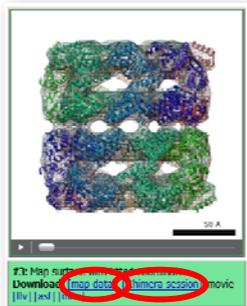
ブラウザのプラグイン

Adobe Flash Player (Macromedia Flash)
Java実行環境
(最近のWindows・Macでは、最初からインストールされている)

52

ムービーじゃ不満？ それなら・・・

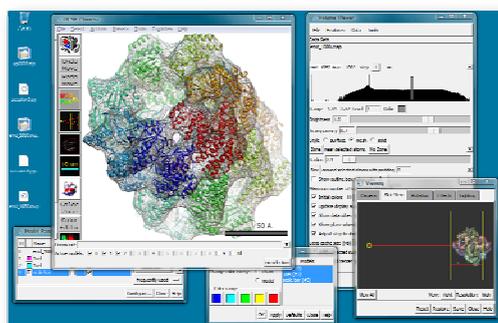
セッションファイル と マップファイル
をダウンロードして UCSF-Chimeraで開く



53

ムービーじゃ不満？ それなら・・・

セッションファイル と マップファイル
をダウンロードして UCSF-Chimeraで開く



54