

# EM Navigatorで3次元電子顕微鏡のデータを眺める

**EM Navigator**  
Electron Microscopy data Navigator

PDBj > EM Navigator - Top Page

Search

Keywords:  Search

EMDB-ID:  Execute

View all the entries as [List](#), [Table](#), or [Gallery](#)

Movie Slots [Play/Pause](#) [Reshuffle](#)

The interface displays three movie slots, each showing a 3D surface model of a protein complex. The first slot shows a dimeric structure with a grid overlay, labeled with EMDB-ID: 1042. The second slot shows a spherical structure with internal density, labeled with EMDB-ID: 1121. The third slot shows a single, irregularly shaped structure, labeled with EMDB-ID: 1357.

EMDB-ID: 1042  
[Movie Page](#)

EMDB-ID: 1121  
[Movie Page](#)

EMDB-ID: 1357  
[Movie Page](#)

日本蛋白質構造データバンク 鈴木博文  
PDBj 講習会 2008年3月3日 阪大中之島センター

# はじめに：EM Navigatorとは？

PDBjのウェブサイトのひとつ

3次元電子顕微鏡による構造データのブラウザ

URL <http://emnavi.protein.osaka-u.ac.jp/>

EMDBというデータベースの全データ

関連するPDBエントリの画像、リンクなど

3次元構造を手軽にわかりやすく閲覧

(YouTubeのようなムービー)

## 3次元電子顕微鏡のことをよく知らない方、全く知らない方

- X線結晶解析やNMRと比較すると一般的ではない
- 専門家は少ない、知らなくて当然

## 3次元電顕について聞きかじっておきたい方

たとえば次ののような理由で…

- 興味深い論文に3次元電顕のデータが含まれている
- 3次元電顕屋と共同研究したい（している）
- ライバルが3次元電顕屋と組んでいる

# はじめに：この講習会の内容

## #1 3次元電顕の基礎知識

解析手法、データの意味、内容についての簡単な紹介

## #2 EM Navigatorの使い方

ウェブサイトの紹介

## #3 データを眺める

多数のデータを「眺める」ことにより分かることの話

## #4 さわってみる

実際に3次元マップをさわってみる

UCSF-chimeraを使用

## #1 3次元電顕の基礎知識

解析手法、データの意味、内容についての簡単な紹介

## #2 EM Navigatorの使い方

ウェブサイトの紹介

## #3 データを眺める

多数のデータを「眺める」ことにより分かることの話

## #4 さわってみる

実際に3次元マップをさわってみる

UCSF-chimeraを使用

## 「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）はとても小さい  
ナノスケール
- 「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1 Åよりも高分解能)

## 光を電子線に置き換えた顕微鏡 → 電子顕微鏡

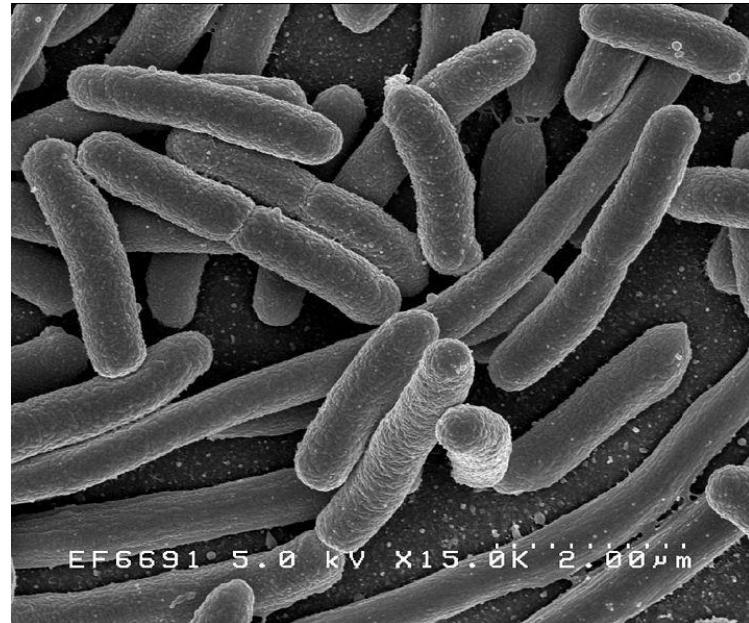
光源	→	電子銃
レンズ	→	電子レンズ（電磁石のレンズ）
目、カメラ	→	蛍光板、カメラ
※ブラウン管とも似ている		

# 基礎知識：SEMとTEM



JEM-5800LV

(東北大学工学部ウェブページより)



大腸菌のSEM像 (Wikipediaより)

## SEM：走査型電子顕微鏡

電子線を走査させて散乱した電子線を計測→像をつくる

実体顕微鏡（見る方向から光を当てる）に近い感じ

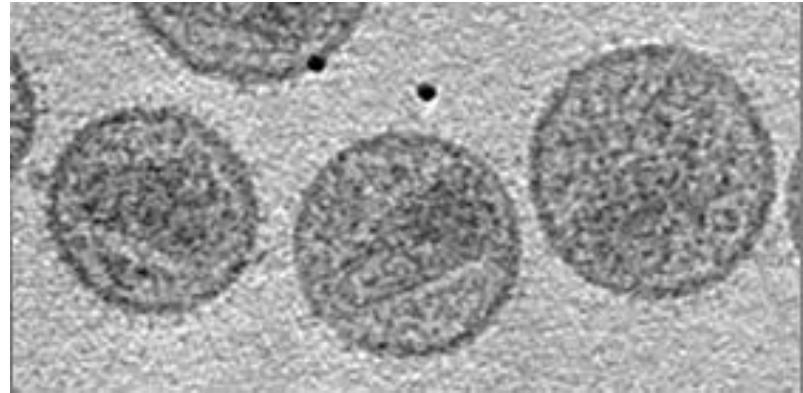
表面構造が立体的に見える（本当の3次元ではない）

髪の毛や昆虫の複眼など、よく目にするのはSEM像

# 基礎知識：SEMとTEM



TEM (JEM-3000型)



EMDB-ID 1155 : HIV-1  
(TEMトモグラム) 図幅: 460nm

## TEM : 透過型電子顕微鏡

試料を透過した電子線をレンズで結像

半透明な物体の「影絵」（レントゲン写真に近い）

高分解能 ( $\text{\AA}$  レベル) 、 中も見える

→ 分子レベルの解析には主にTEMが用いられる

## 2次元（透過像）なのでわかりにくい

多方向から見た像を使って3次元再構成

- 単一の試料の像から

→ 「電子線トモグラフィー法」 (CTスキャンの”T”)

- 別々の試料の像から

→ その他の手法

## ノイズが多くてよく見えない

- ローパスフィルタ（ぼかし）

分解能が犠牲

- 多数の像を平均

分解能の低減は少なくできる

非常に手間がかかる、ハードルが高い

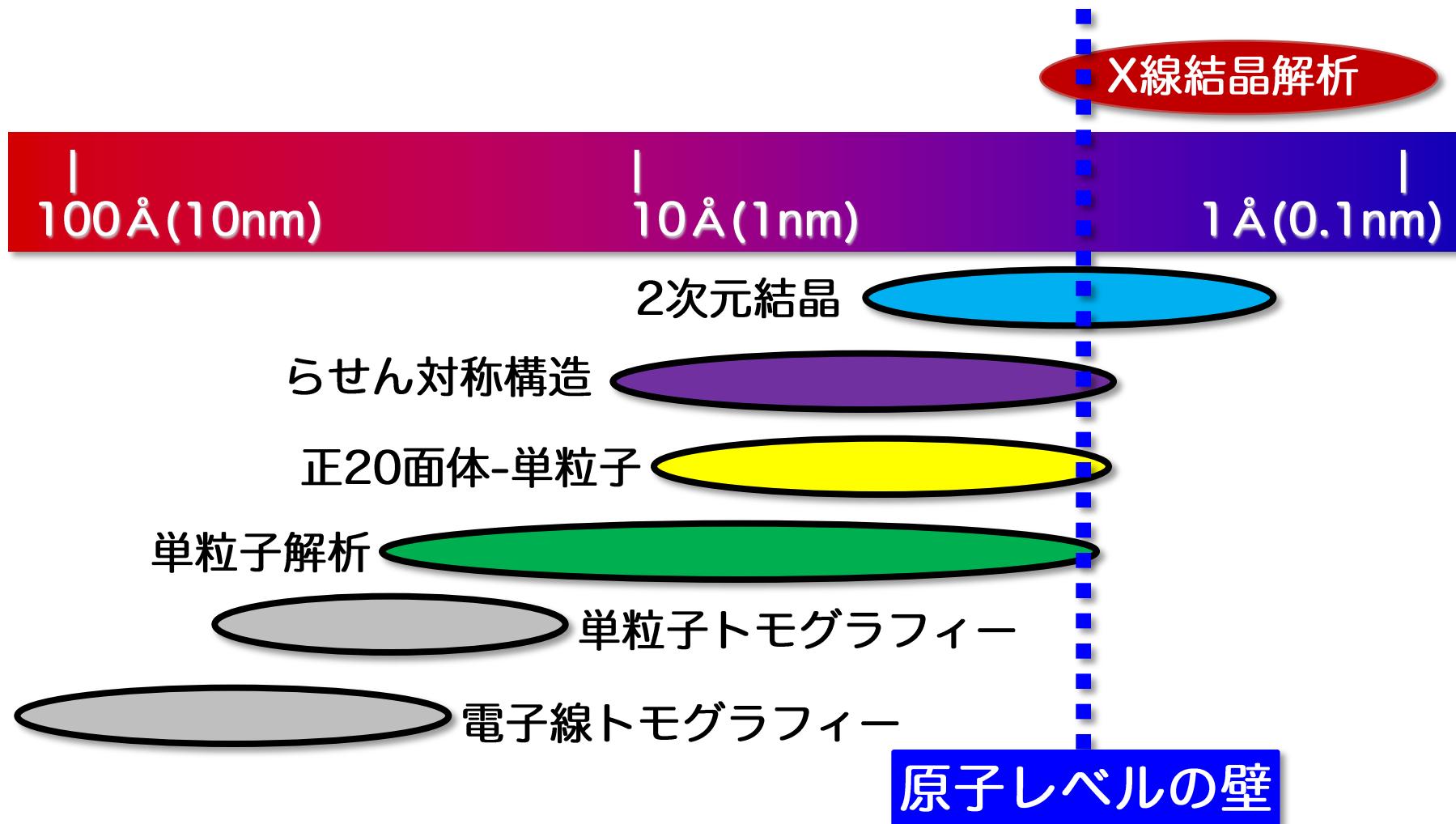
→ これらを行うのが「3次元電顕」

「多方向からの情報」「多数を平均」はX線結晶学と同じ概念

結晶を回してデータ収集する

結晶の繰り返しを利用して信号を増幅

# 基礎知識：解析手法と分解能



どの手法が有効かは、試料の状態  
(Aggregation State)によって決まる

## 試料調整のハードルが低い（一般に）

結晶が必須でない（手法による）

試料の量、純度、濃度、安定性に寛容

（コンピュータの中での「精製」も可能）

## 大きな試料が得意

見えている像を解析 → 大きさに制限がない（少ない）

→ より「生き生きとした」状態の試料を見られる

## 到達分解能が低い

「3次元化」と「ノイズ低減」で分解能が犠牲

原子レベルの解析は難しい

→ 最終データは3次元密度マップ

（X線結晶学での電子密度のようなもの）

多くの観点でX線結晶学・NMRとは真逆で相補的

## 原子モデルのトレースができない

ただし、電顕構造の「分解能」はX線結晶学とは違う  
(X線結晶学・NMRでは、  
不足情報を原子モデル構築に伴い補完)

→ PDBに登録できない (原子座標は PDBの必須データ)

## 「カタチ」しか分からない

直接のアウトプットは「3次元マップ」  
どの原子がどこにあるか、どこに何があるのか分からない

## 3次元マップとは？

電子密度マップとほぼ同じ  
(「電位密度」「電子顕微鏡密度」などとも)

3次元マトリクスのすべての点が密度情報をもつ  
→ グレースケール画像の3次元版のようなもの  
表面構造ではない (どこが表面かはわからない)

# 基礎知識：EM Data Bank

The screenshot shows the homepage of the EMDB (EM Data Bank) website. At the top is a large blue logo with the letters 'EMDB' in a bold, sans-serif font. Below the logo, the words 'EM DATA BANK' are written in a smaller, dark blue, all-caps font. A horizontal navigation bar follows, featuring 'Overview' and 'Centers' in white text on a dark blue background. Below the navigation bar, there are logos for NCMI (National Center for Macromolecular Imaging) and RCSB PDB (Protein Data Bank). The main content area has a light gray background and contains the following text:

**A Unified Data Resource for CryoEM**

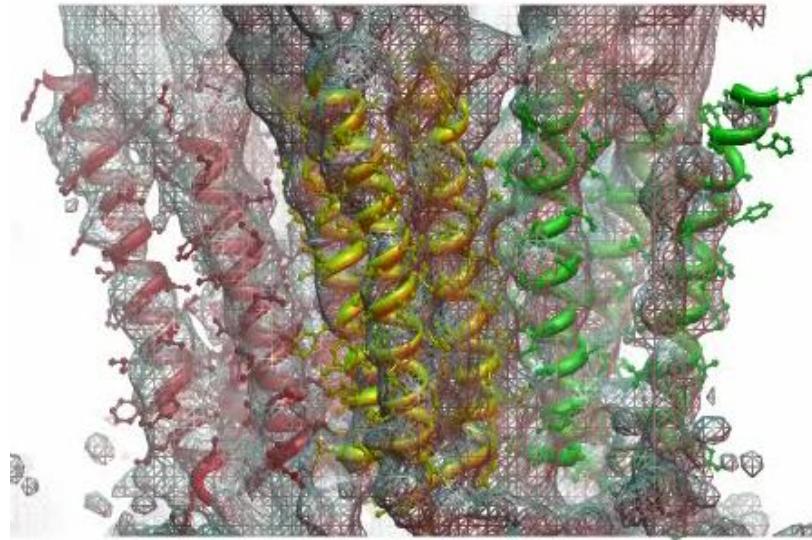
Cryo electron microscopy (cryoEM) is a maturing methodology in structural biology that enables the determination of 3-D structures of macromolecular complexes and cells from 2 to 100 Angstrom resolution with information that bridges the gap between cell biology and crystallography/NMR. In the past three years a community consensus has been reached that it is time to establish publicly supported, one-stop deposition and retrieval facilities for cryoEM density maps, atomic models and associated metadata. A joint effort among investigators of the EBI, RCSB and the National Center for Macromolecular Imaging, we aim to integrate the expertise and infrastructure of these well-established research centers to create a global deposition and retrieval network for cryoEM map, model and associated metadata, as well as a portal for a number of software tools for standardized map format conversion, map, segmentation and model assessment, visualization, and data integration. We envision these tools as an essential step in the verification of the deposited data, while concurrently facilitating the efficient use of the archived data.

[Visit the EMDB site](#)

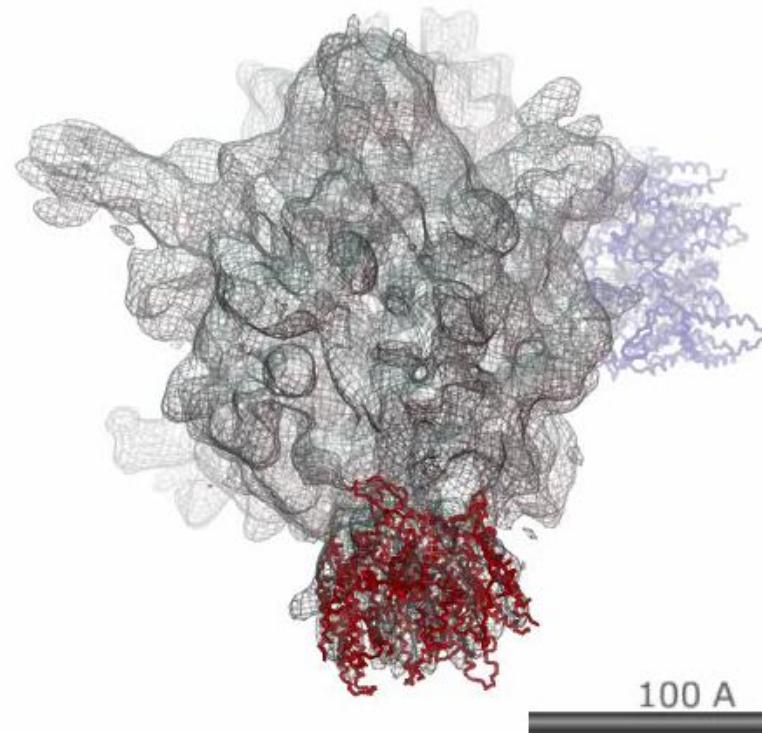
<http://emdatabank.org/>

3次元電顕のデータベース  
主データは3次元マップ（ccp4形式）  
試料の説明、実験条件などのメタデータ  
画像などの付随データも収集  
2002年EMBL-EBIにより設立、運用  
2008年から米国RCSBもデータの収集を開始

# 基礎知識：3次元電顕とデータベース

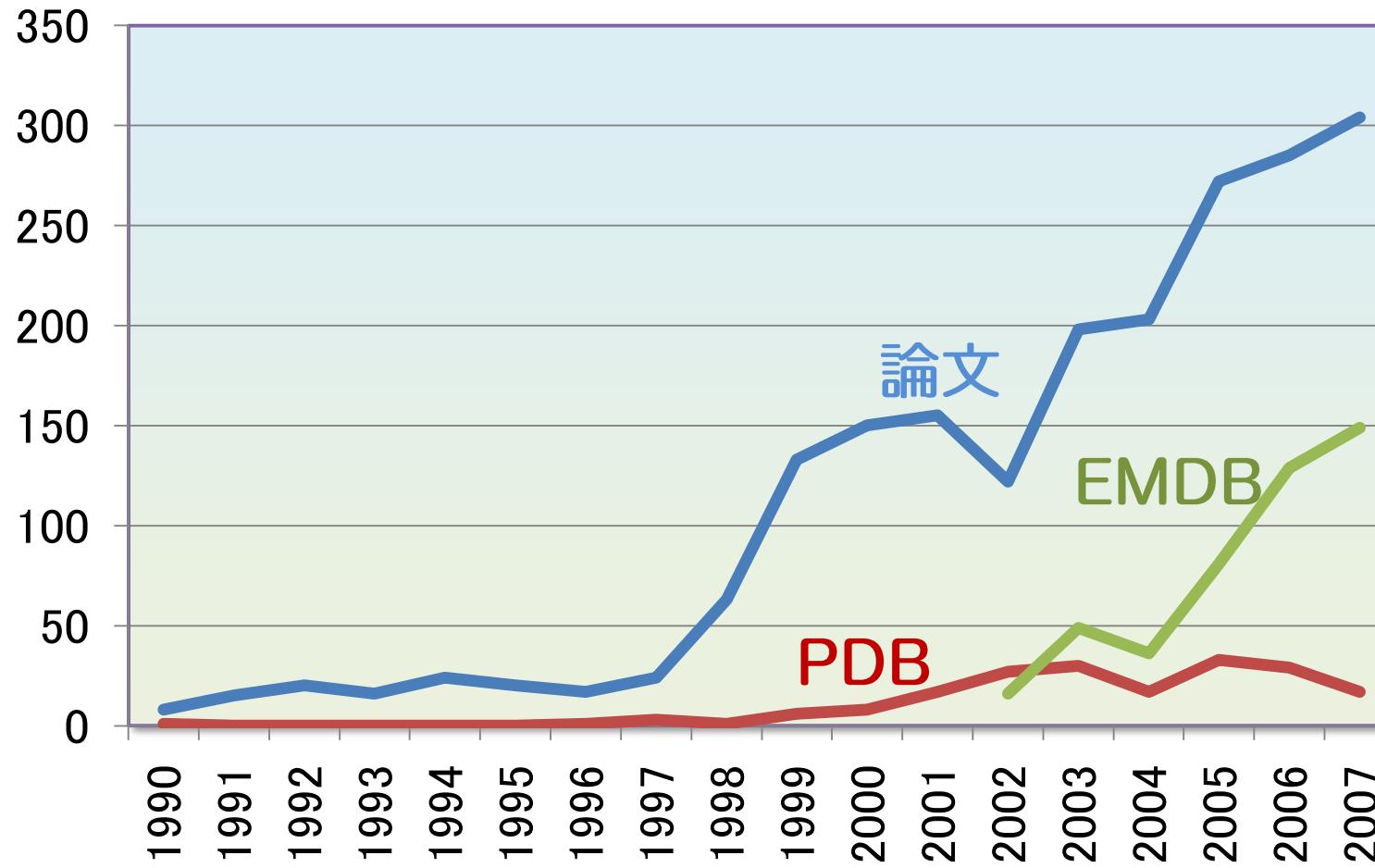


**EMDB-1044とPDB-1OED**  
アセチルコリン受容体の膜貫通部位  
(4 Åマップから直接モデル構築)



**EMDB-1143とPDB-2AKI**  
リボソーム-輸送チャネルの複合体  
(既知の原子モデルを使って構築)

# 基礎知識：データ数の推移



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

## #1 3次元電顕の基礎知識

解析手法、データの意味、内容についての簡単な紹介

## #2 EM Navigatorの使い方

ウェブサイトの紹介

## #3 データを眺める

多数のデータを「眺める」ことにより分かることの話

## #4 さわってみる

実際に3次元マップをさわってみる

UCSF-chimeraを使用

# EM Navigator : 入口 (PDBjトップページ)

PDBj  
Protein Data Bank Japan

English Japanese Chinese Help Contact Us

**Home**

**Data Deposition >>**

ADIT: PDB Deposition  
ADIT-NMR

**Search >>**

Search PDB (xPSSS)  
Sequence-Navigator  
Structure-Navigator

**EM Navigator**

**Service and Software >>**

Protein Globe  
ASH  
JV: Graphic Viewer

**Derived database >>**

eF-site/eF-seek/

PDBj (Protein Data Bank Japan) maintains a centralized archive of macromolecular structures and provides integrated tools, in collaboration with the RCSB in USA and the MSD-EBI in EU. PDBj is supported by JST-BIRD.

**Deposition**

**PDB Deposition** ADIT! Auto Dep Input Tool

**NMR Data Deposition** ADIT! NMR

**Search**

**Search PDB** xPSSS xml-based Protein Structure Search Service

PDB ID  Keywords  
 Go

**Search NMR Data** BMRB

Accession number  Deposition code  
 Go

**Advanced Search >>**

**What's new**

20-Dec-2007  
Data download service via rsync is started.

12-Dec-2007  
Effective February 1, 2008, structure factor amplitudes/intensities (for crystal structures) and restraints (for NMR structures) will be a

WORLDWIDE PDB PROTEIN DATA BANK

eProtS Encyclopedia of Protein Structures

Protein Globe

DBCLS Database Center for Life Science

Tanpaku.org

National Project on Protein Structural and Functional Analyses

<http://www.pdbj.org/index.html>

# EM Navigator : トップページ

**EM Navigator**  
Electron Microscopy data Navigator

PDBj > EM Navigator - Top Page

**Search**

Keywords:  Search

EMDB-ID:  Execute

View all the entries as [List](#), [Table](#), or [Gallery](#)

**Movie Slots** [Play/Pause](#) [Reshuffle](#)

50 Å

EMDB-ID: 1042  
[Movie Page](#)

200 Å

EMDB-ID: 1121  
[Movie Page](#)

50 Å

EMDB-ID: 1357  
[Movie Page](#)

<http://emnavi.protein.osaka-u.ac.jp/>

# EM Navigator : リストページ (検索結果)

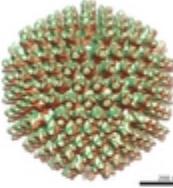
**EM Navigator**

PDBj > EM Navigator > Search Result

Keywords: virus 20 /page Search

81 - 100 of 160 for "virus" < Previous 1 2 3 4 [5] 6 7 8 Next >

---

 EMDB-ID: 1272 Movie Page Download Map

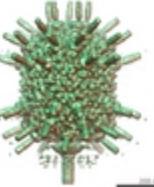
Adenovirus capsid with GFP fused to C-terminus of capsid protein pIX  
in 'icosahedral' state, at 22 Å resolution  
2006-10-04  
[M. P. Marsh](#), [S. K. Campos](#), [M. L. Baker](#), [C. Y. Chen](#), [W. Chiu](#), [M. A. Barry](#)

---

 EMDB-ID: 1266 Movie Page Download Map

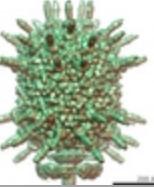
emptied bacteriophage phi29 particle  
in 'single particle' state, at 27 Å resolution  
2006-09-12  
[Ye Xiang](#), [Marc C. Morais](#), [Anthony J. Battisti](#), [Shelley Grimes](#), [Paul J. Jardine](#), [Dwight L. Anderson](#), [Michael G. Rossmann](#)

---

 EMDB-ID: 1265 Movie Page Download Map

phi29 mature particle  
in 'single particle' state, at 16 Å resolution  
2006-09-12  
[Ye Xiang](#), [Marc C. Morais](#), [Anthony J. Battisti](#), [Shelley Grimes](#), [Paul J. Jardine](#), [Dwight L. Anderson](#), [Michael G. Rossmann](#)

---

 EMDB-ID: 1260 Movie Page Download Map

emptied bacteriophage phi29  
in 'single particle' state, at 20 Å resolution  
2006-08-22  
[Ye Xiang](#), [Marc C. Morais](#), [Anthony J. Battisti](#), [Shelley Grimes](#), [Paul J. Jardine](#), [Dwight L. Anderson](#), [Michael G. Rossmann](#)

# EM Navigator : テーブルページ

**EM Navigator**

(Click the column header to sort)

PDB > EM Navigator > Table View

Column 4: Aggregation State    Column 5: Resolution    Column 6: Authors

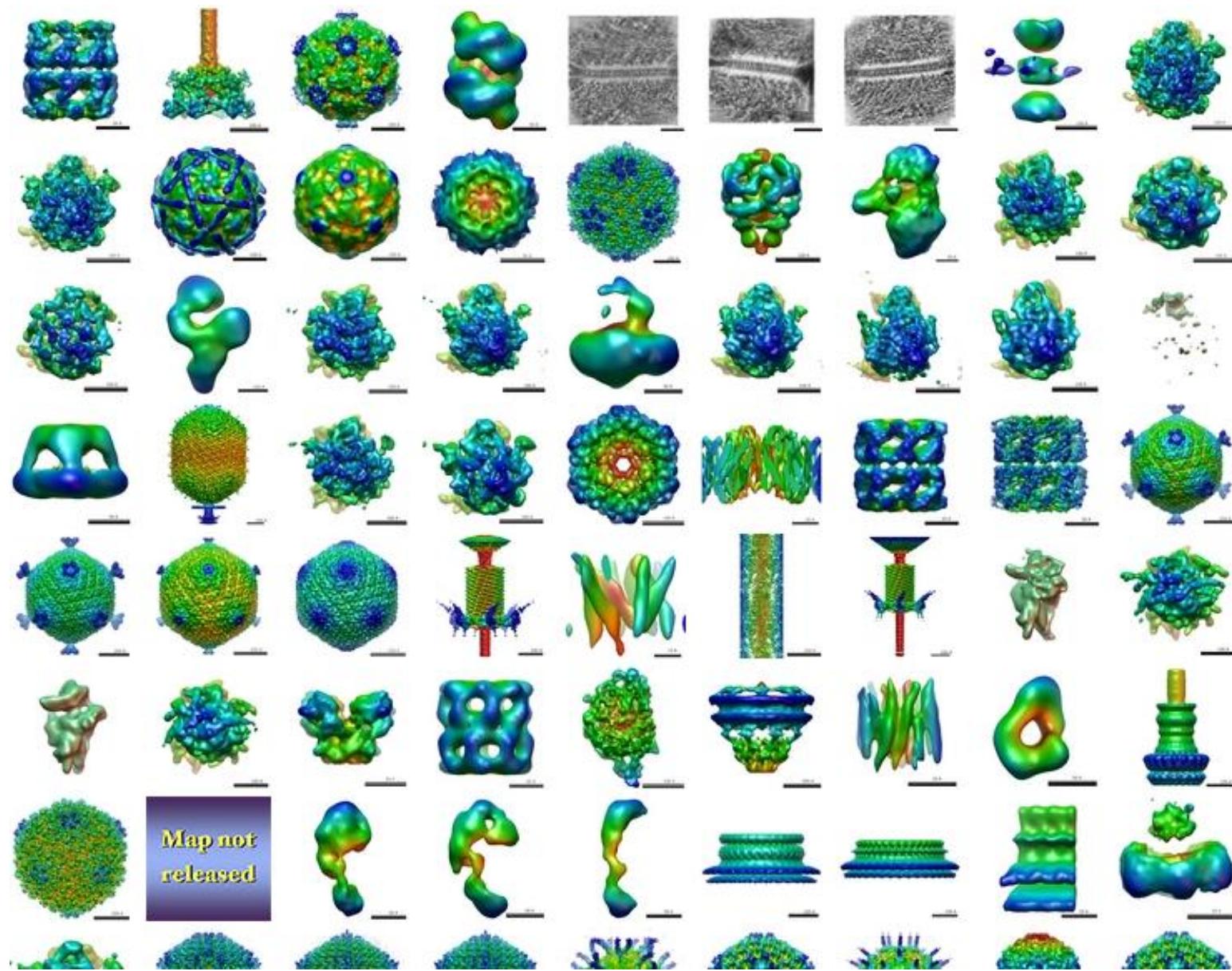
Keywords:

Submenu:

- entry
- Map Release Date
- Submission Date
- Authors
- Journal Name
- Sample
- Aggregation State
- Number of Components
- Oligomeritic State
- Experimental Mol Wt
- Theoretical Mol Wt
- Experiment
- Cryogen Name
- Instrument for vitrification
- Microscope
- Accelerating Voltage
- Specimen Holder
- Electron Source
- Processing
- Resolution
- 3D reconstruction Algorithm
- 3D reconstruction Software
- Fitting Software
- Urmila Rawat, A. V. Zavialov, J. Sengupta, M. Valle, R. A. Grassucci, J. Linde, B. Vestergaard, M. Ehrenberg, J. Frank
- Urmila Rawat, A. V. Zavialov, J. Sengupta, M. Valle, R. A. Grassucci, J. Linde, B. Vestergaard, M. Ehrenberg, J. Frank
- C. San Martin, T. T. Huijskens, T. K. Ramford.

ID	Movie	Sample Name	Agg State	Resolution	Aut
<a href="#">1001</a>	Movie	Rigor insect flight muscle from <i>Lethocerus maximus</i>	individual structure	40	L. F. Taylor, Irene Spaliogi, Joao H. S. W. W.
<a href="#">1003</a>	Movie	FMet-tRNAMet 70S Ribosome from <i>E.coli</i>	single particle	11.5	B. P. Mya, E. Ehrenberg, Urmila Rawat, J. Linde, B. Vestergaard, M. Ehrenberg, J. Frank
<a href="#">1004</a>	Movie	Kirromycin stalled 70S Ribosome from <i>E.coli</i>	single particle	13	H. S. W. W.
<a href="#">1005</a>	Movie	release factor RF2 bound to <i>E.coli</i> ribosomes	single particle	14	A. G. Ward, M. S. Zemlin, J. A. Christian, J. C. Lounsbury, J. Frank
<a href="#">1006</a>	Movie	<i>E.coli</i> 70s ribosome	single particle	11.3	J. Sengupta, M. Valle, B. Vestergaard, J. Frank
<a href="#">1007</a>	Movie	<i>E.coli</i> 70s ribosome-RF2(wild type) complex	single particle	12.9	J. Sengupta, M. Valle, B. Vestergaard, J. Frank
<a href="#">1008</a>	Movie	<i>E.coli</i> 70s ribosome-RF2(mutant) complex	single particle	10.9	J. Sengupta, M. Valle, B. Vestergaard, J. Frank
<a href="#">1009</a>	Movie	RF2 (GAQ) mutant from <i>E.coli</i>	single particle		J. Sengupta, M. Valle, B. Vestergaard, J. Frank
<a href="#">1010</a>	Movie	RF2(GGQ) wild type from <i>E.coli</i>	single particle		J. Sengupta, M. Valle, B. Vestergaard, J. Frank

# EM Navigator : ギャラリーページ



# EM Navigator : 詳細

**EM Navigator**

PDBj > EM Navigator > EMDB-ID: 1180 ( Details / Movies ) < >

**GroEL-ATP7-GroES**  
in 'single particle' state, at 7.7 Å resolution

50 Å

▲ ▶ ▶ ▶ ▶ ▶

**Entry**

Database / ID	EM DATA BANK (EMDB) / 1180
Last Update	2005-11-22
Map release	2006-02-14
Sample Name / Map Annotation	<b>GroEL-ATP7-GroES</b> GroEL-ATP7-GroES complex

**EMDB figure**

supplied by Neil Ranson

**Movies**

**Fitted PDB data**

[2c7c](#)

Entry Article Map Supplement Sample Experiment Processing Download

## #1 3次元電顕の基礎知識

解析手法、データの意味、内容についての簡単な紹介

## #2 EM Navigatorの使い方

ウェブサイトの紹介

## #3 データを眺める

多数のデータを「眺める」ことにより分かることの話

## #4 さわってみる

実際に3次元マップをさわってみる

UCSF-chimeraを使用

# データを眺める：閲覧に必要なもの

## ウェブブラウザ

IE6/7、Firefox1/2、Opera9、Safari3にてテスト  
通常のブラウザであれば見られるはず

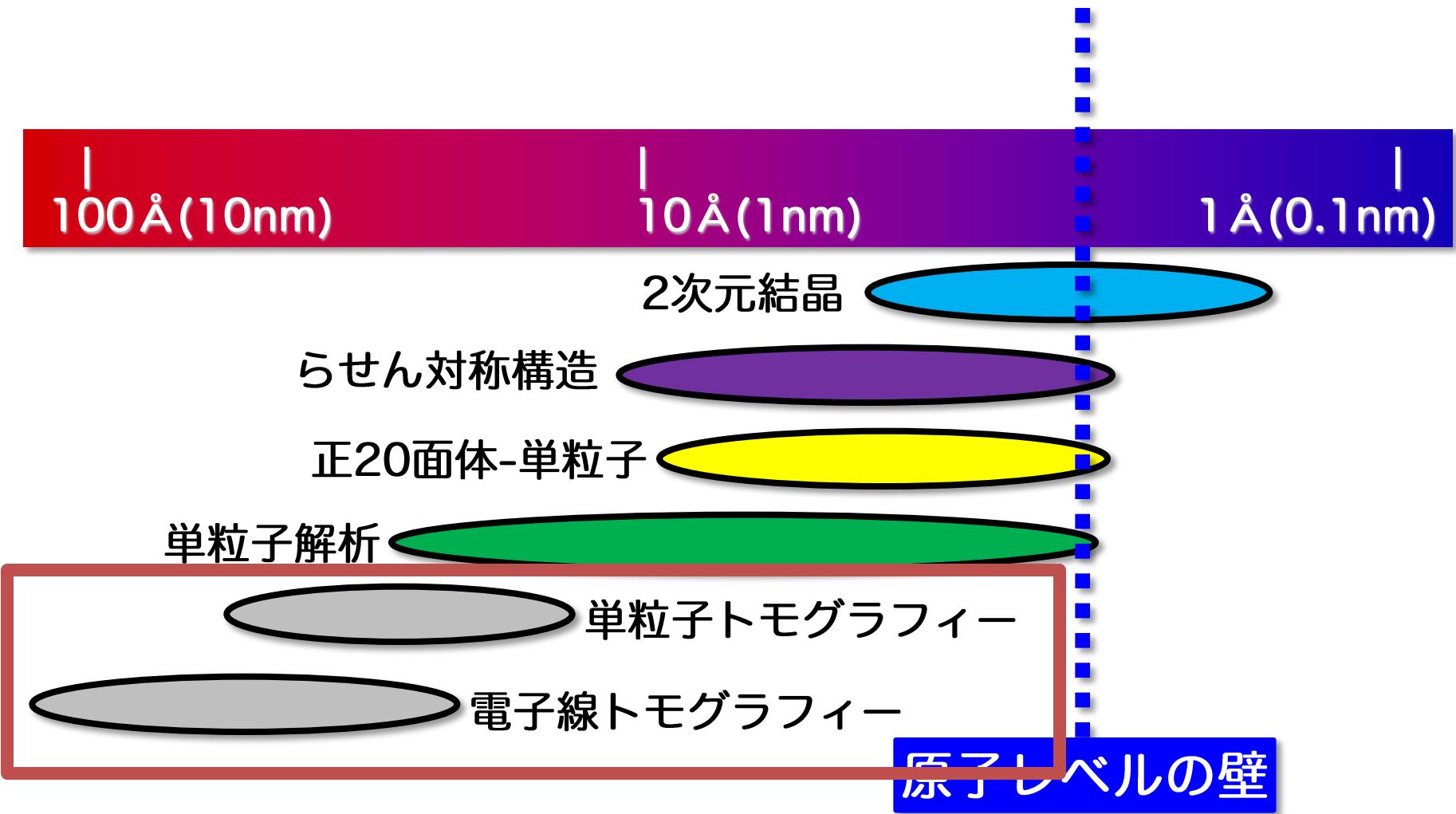
## Adobe Flash Player 9

ムービーの再生に必要  
YouTubeが見られればOK  
あらかじめインストールされていることが多い

Nintendo Wiiでも閲覧可能  
→よほど特殊な環境でない限り閲覧できるはず

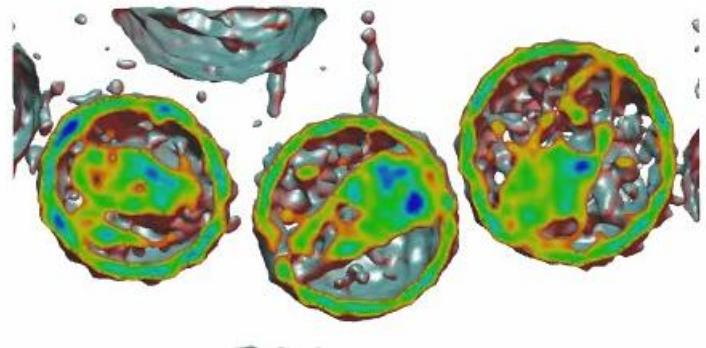
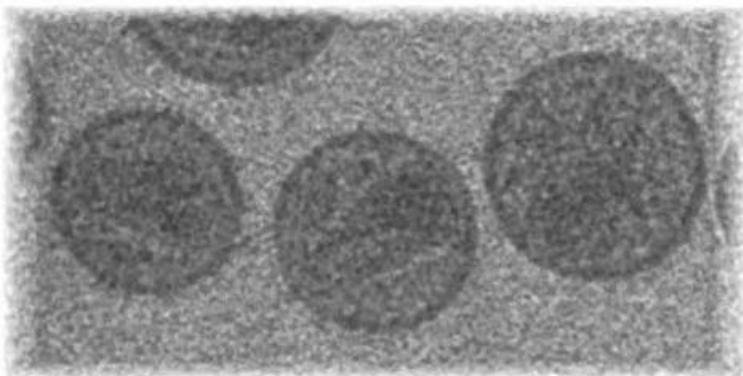
SGIなど、対応するFlashが存在しない環境ではムービーは見られない  
64bit-Linuxでは工夫が必要（例、32bit版Firefoxをインストール）

# データを眺める：Individual Structure



单一の構造：電子線トモグラフィー法によって解析

# データを眺める：Individual Structure

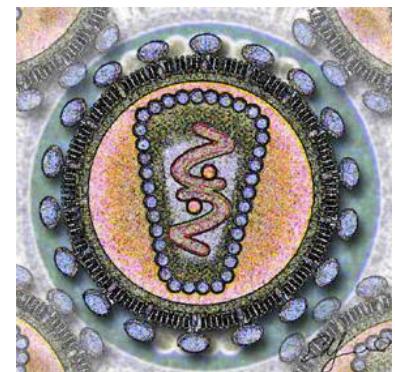


断面図

EMDB-ID 1155 : HIV-1

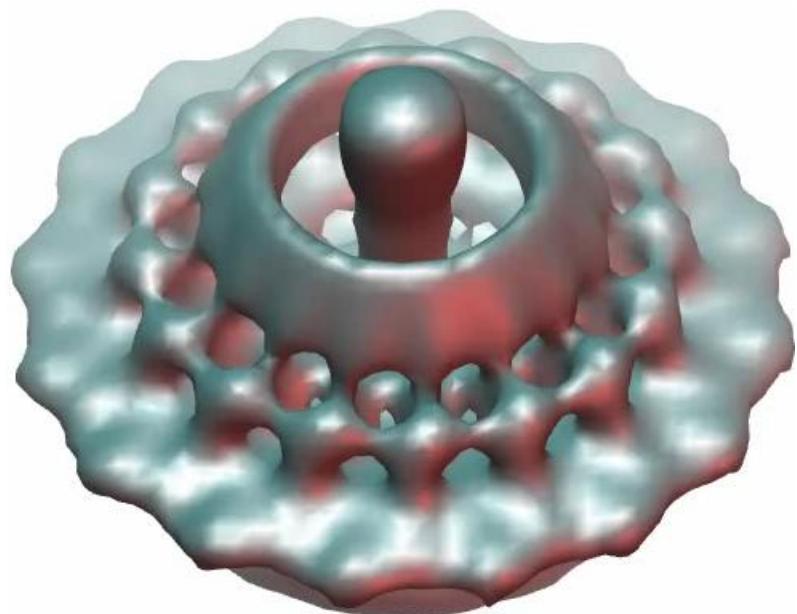
電子線トモグラフィー法による3次元マップ  
(トモグラムという)

HIVは構造が一様でないため平均できない  
右上の図はローパスフィルタ処理でノイズ  
を低減させたもの

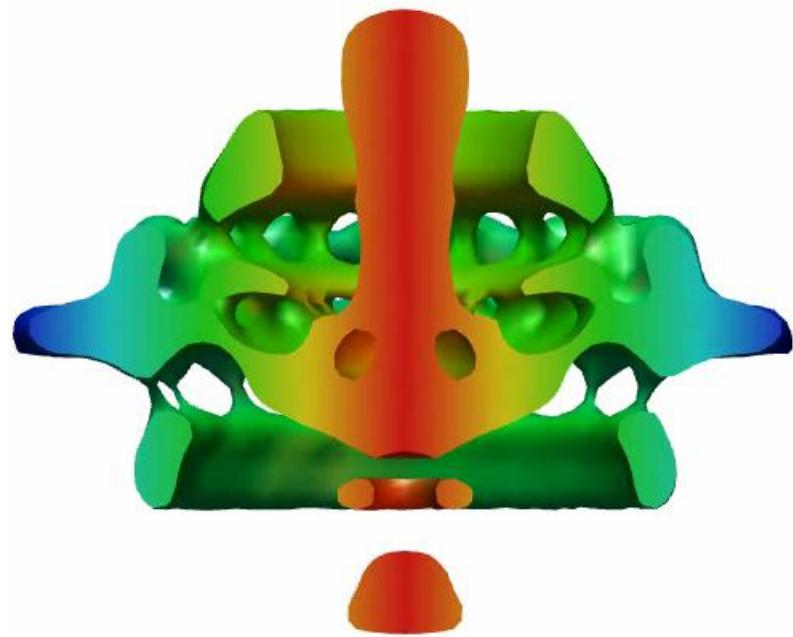


HIVの模式図  
Wikipediaより

# データを眺める：Individual Structure



200 Å

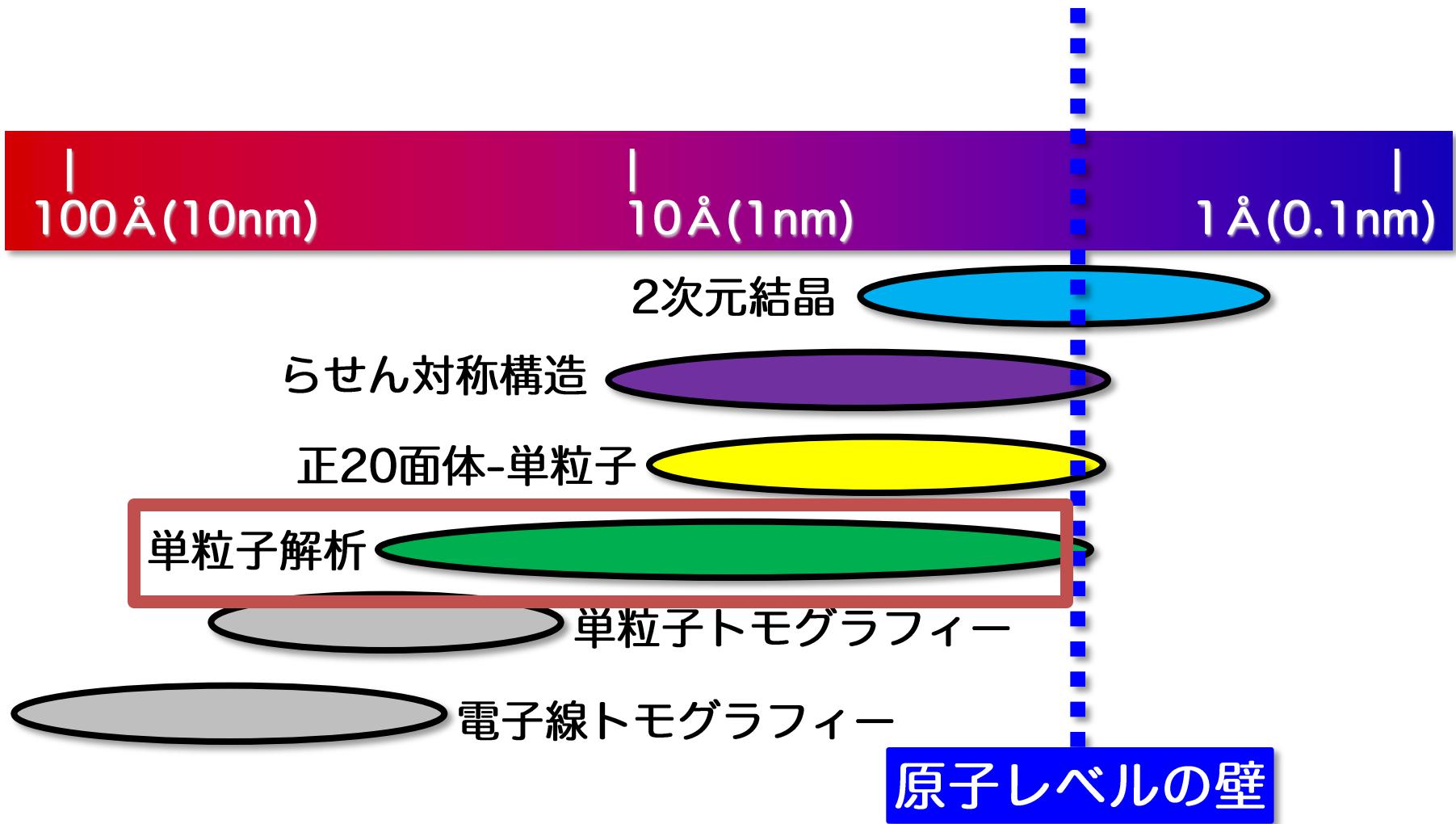


200 Å

断面図

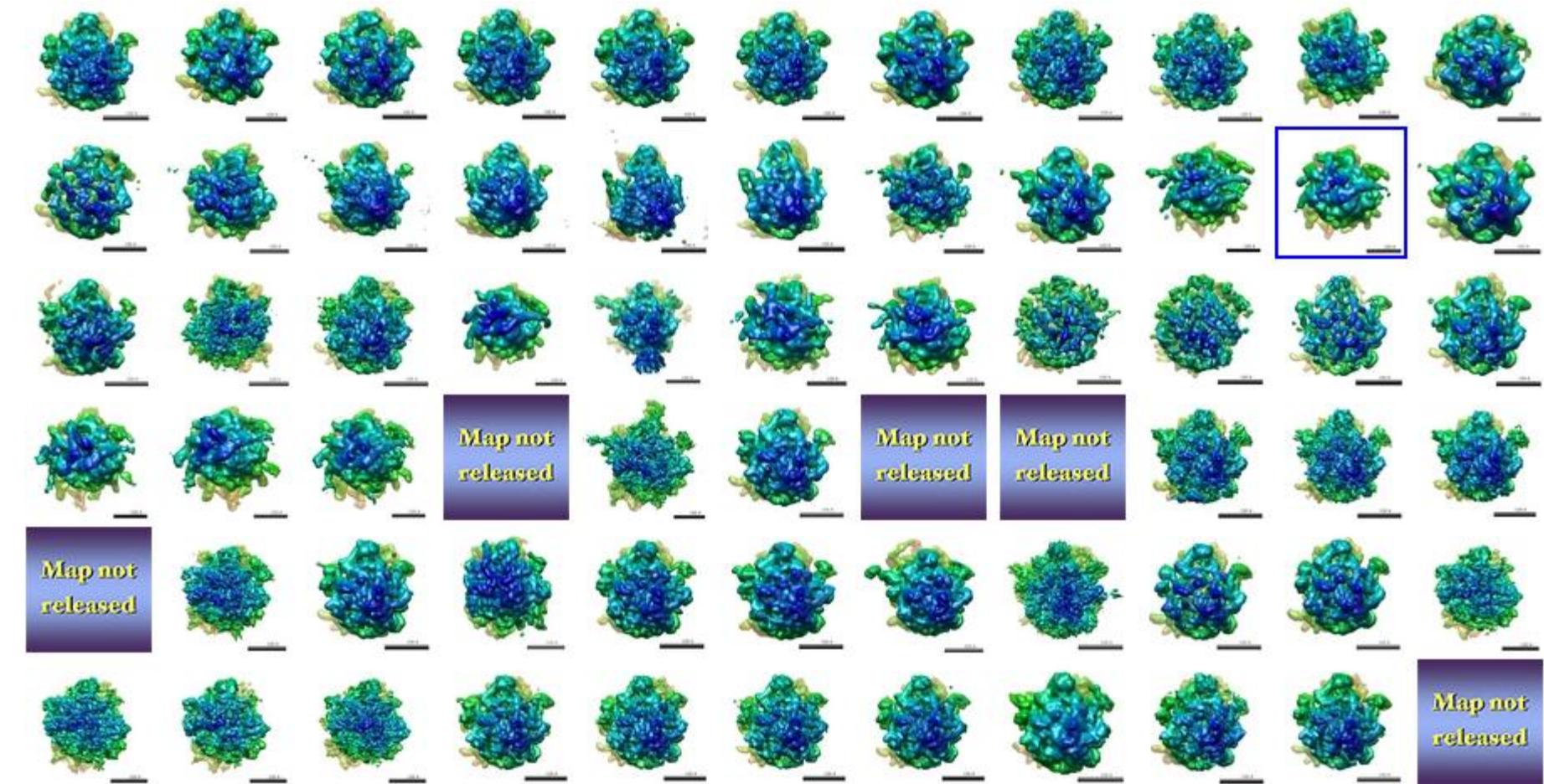
EMDB-ID 1235 : べん毛モーター 70 Å 分解能  
バクテリア全体のトモグラム  
→ 個々のモーター切り出し  
→ 16回回転平均 → 20個分を平均

# データを眺める：Single Particle



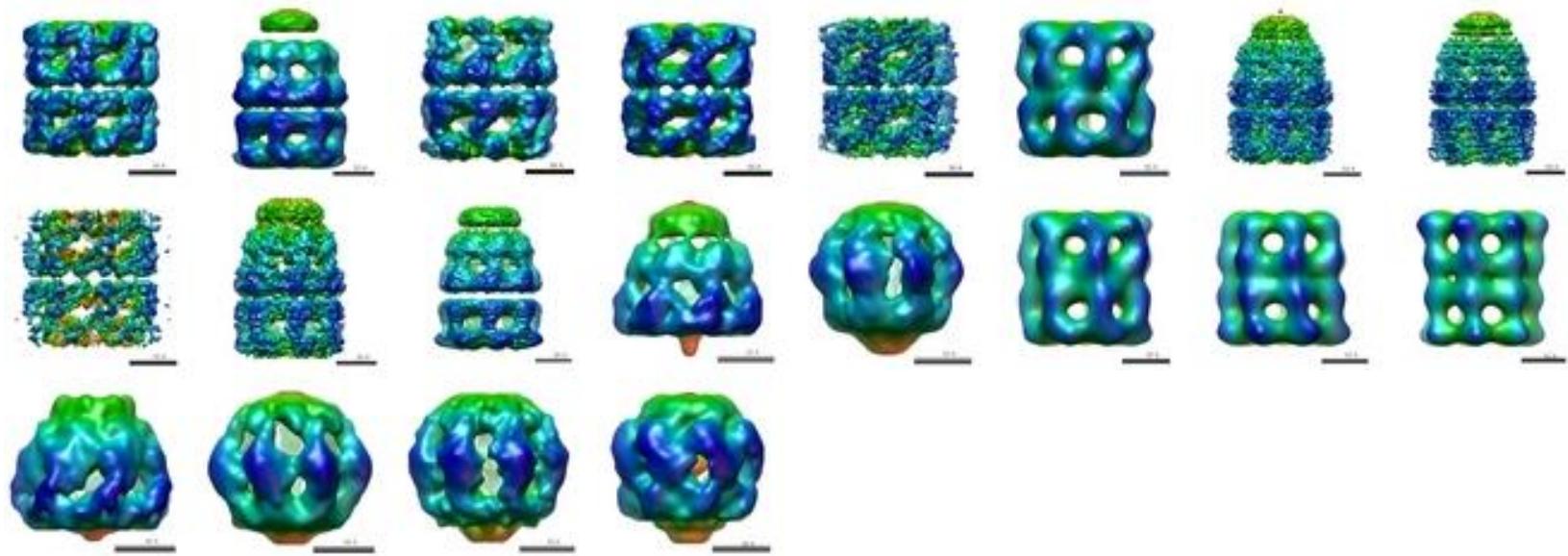
同じものがたくさんある状態：单粒子解析法で解析

# データを眺める：Single Particle



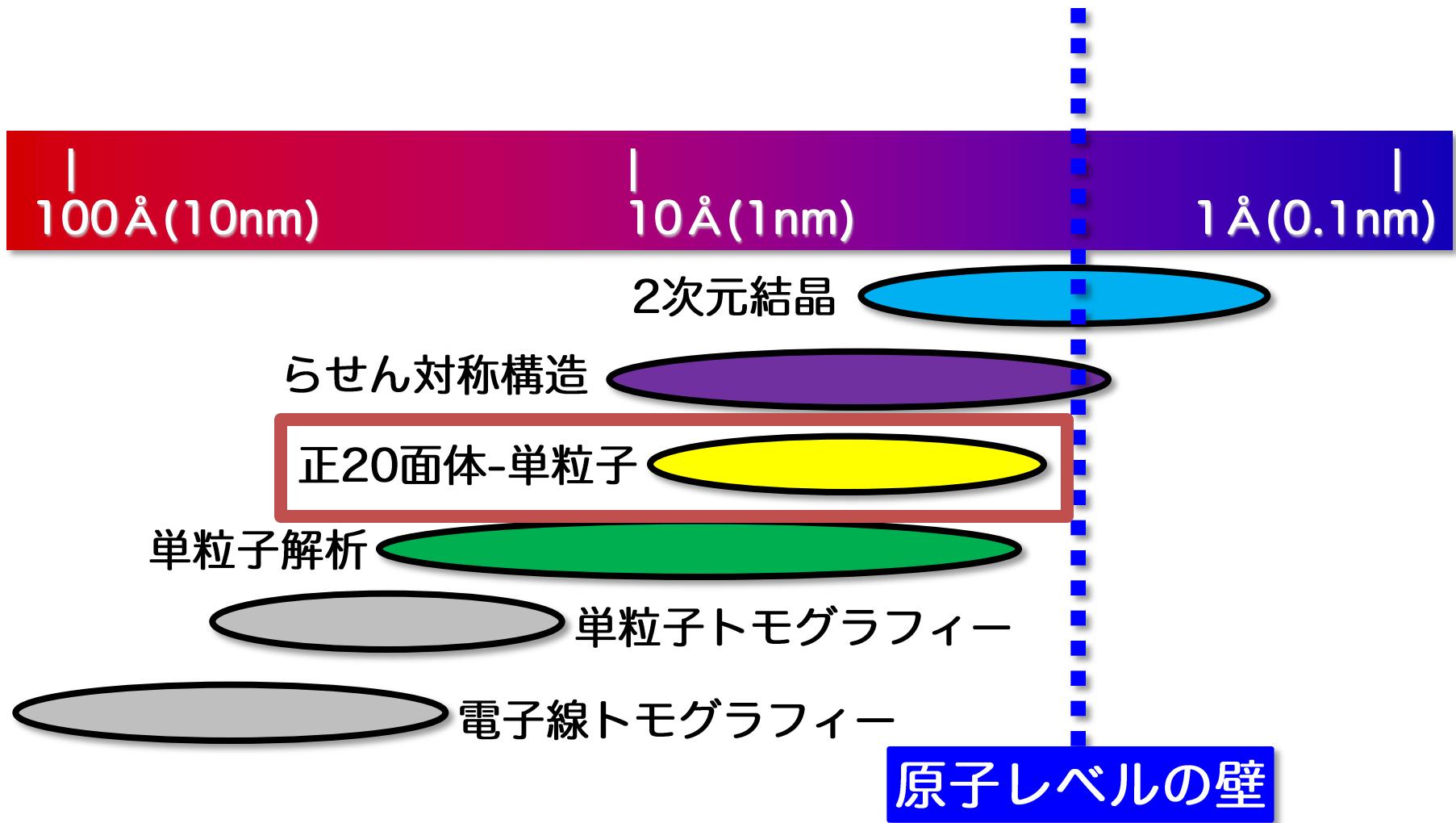
リボソーム（ギャラリーページより）20~7Å分解能  
数万から数十万枚の写真から再構成している  
大サブユニット側から青→赤の着色

# データを眺める：Single Particle



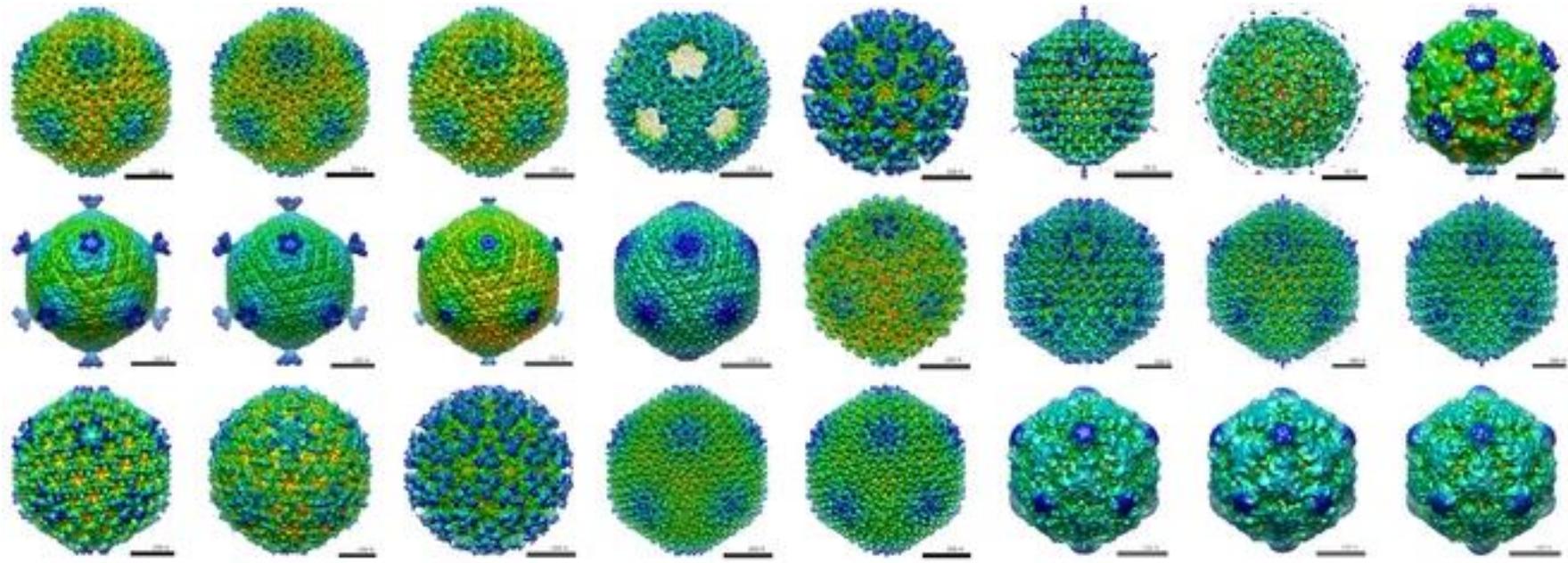
シャペロニンGroELS（ギャラリーページより）20~6Å分解能  
GroELの原子構造は既知であり、新手法のテスト的な解析もあるが、高分解能構造が分かるにつれて、結晶構造と溶液構造での違いが見られるようになってきている

# データを眺める： Icosahedral



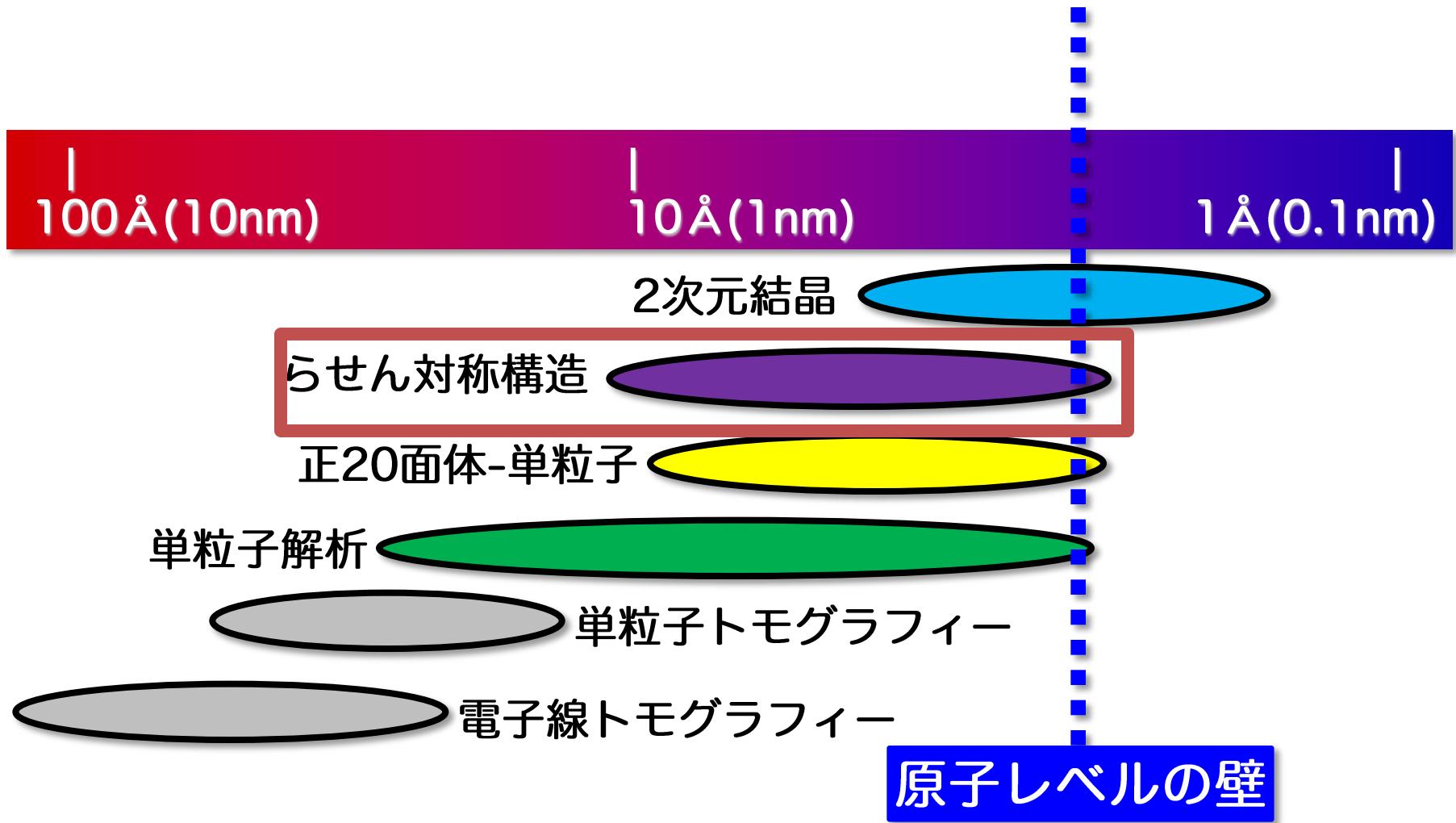
正20面体対称の単粒子：特別な単粒子解析法で解析

# データを眺める： Icosahedral



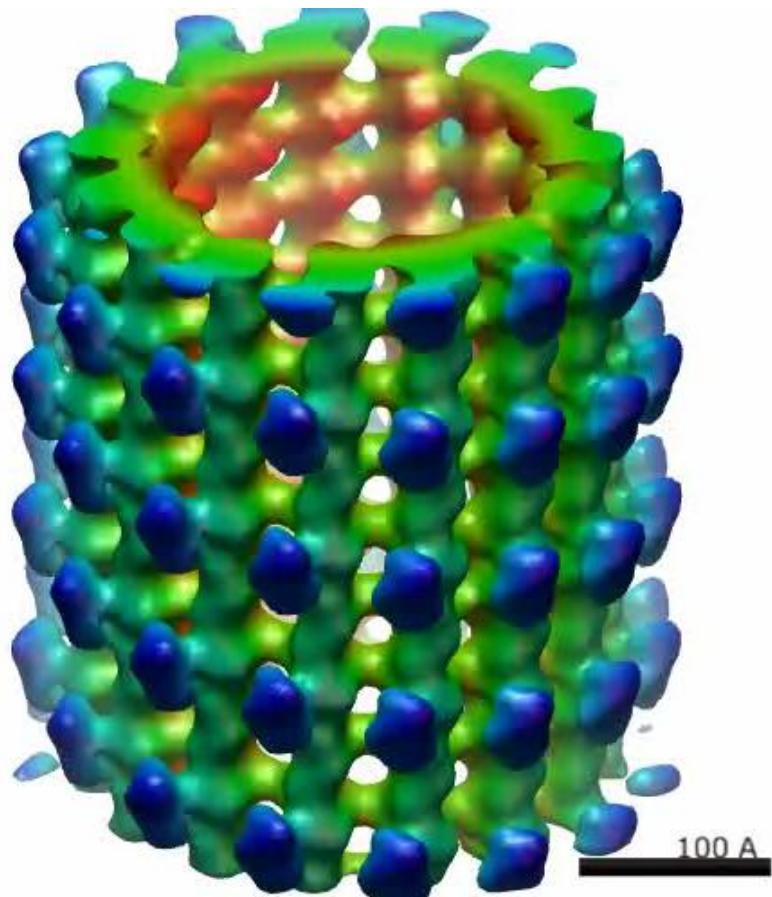
球状ウイルスの構造 (ギャラリーページより) ~5.1 Å分解能  
多くの球状ウイルスは正20面体対称構造の殻をもつ  
正20面体は極めて高度な対称性で構造解析に有利

# データを眺める：Helical

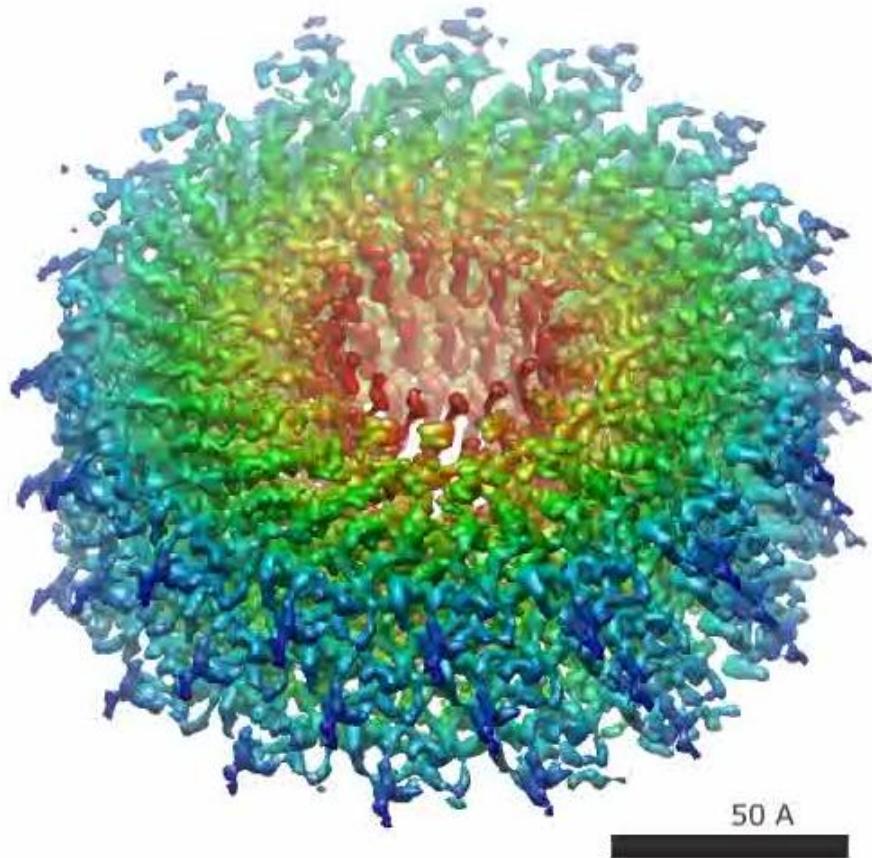


チューブ状結晶などのらせん対称構造：  
らせん対称を利用して解析

# データを眺める：Helical

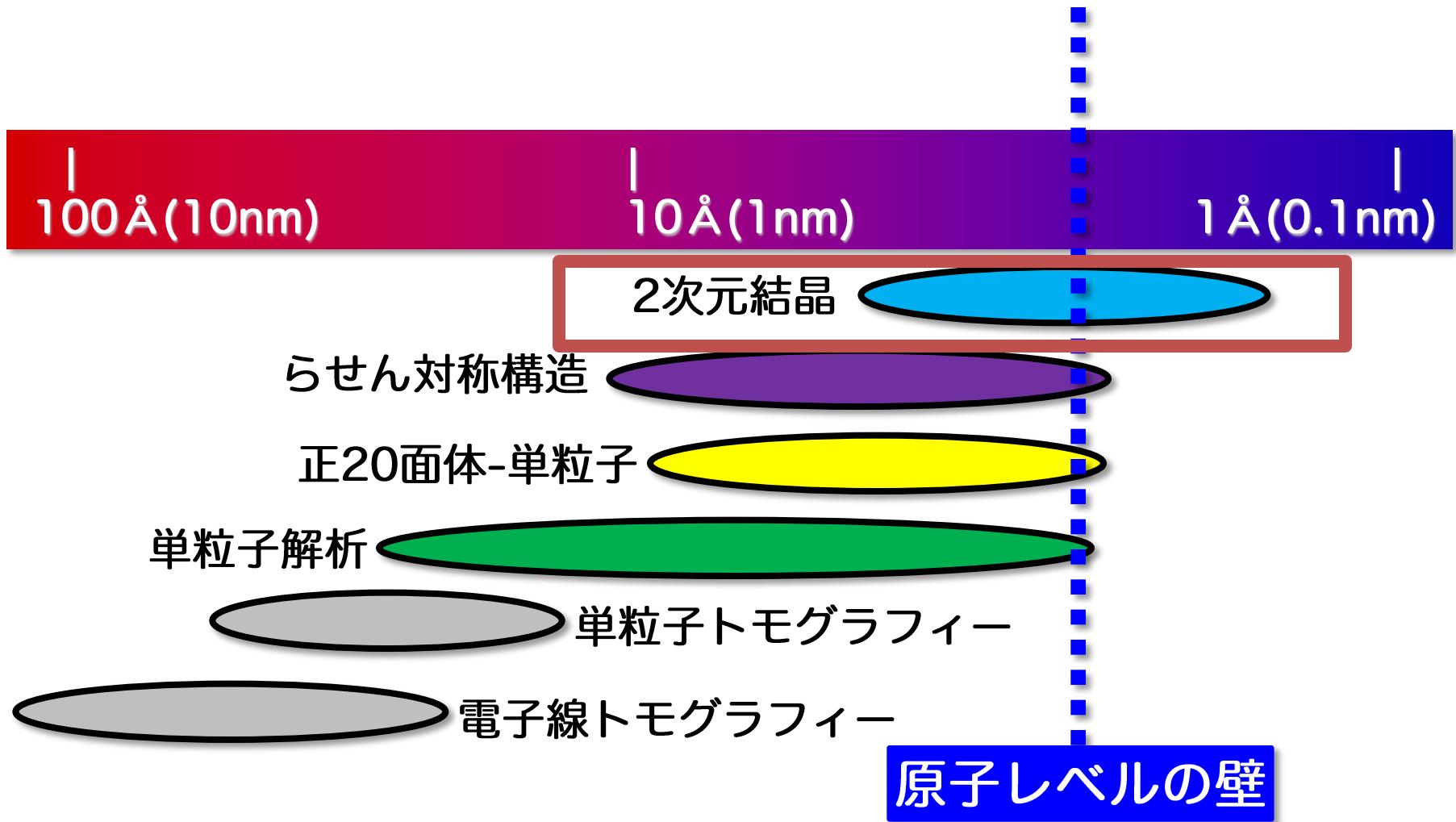


MDB-ID 1444  
微小管とキネシンモーター  
20 Å 分解能



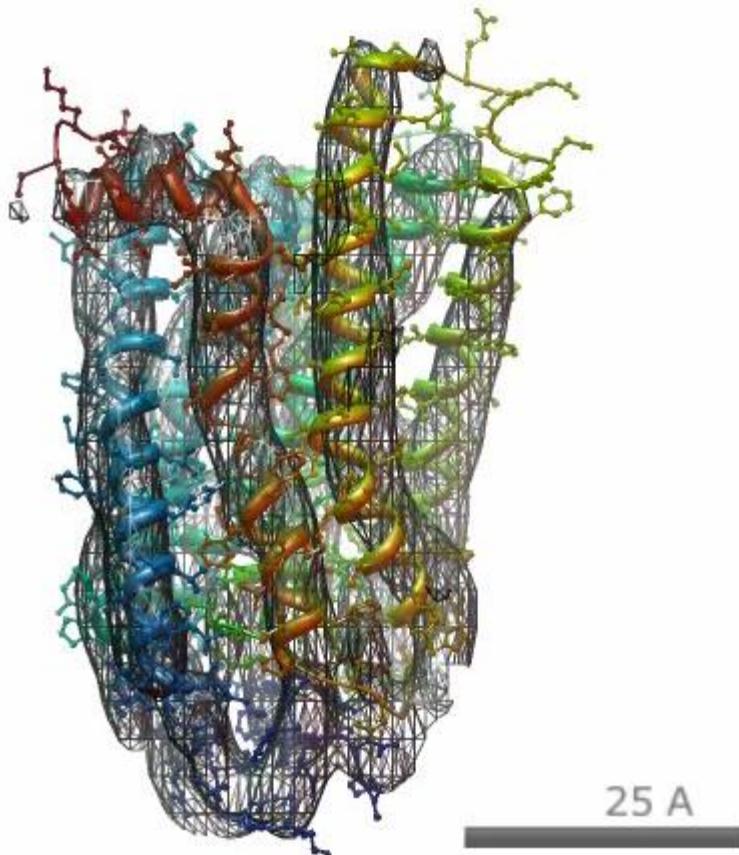
MDB-ID 1316  
タバコモザイクウイルス  
4.4 Å 分解能

# データを眺める：2-D Crystal

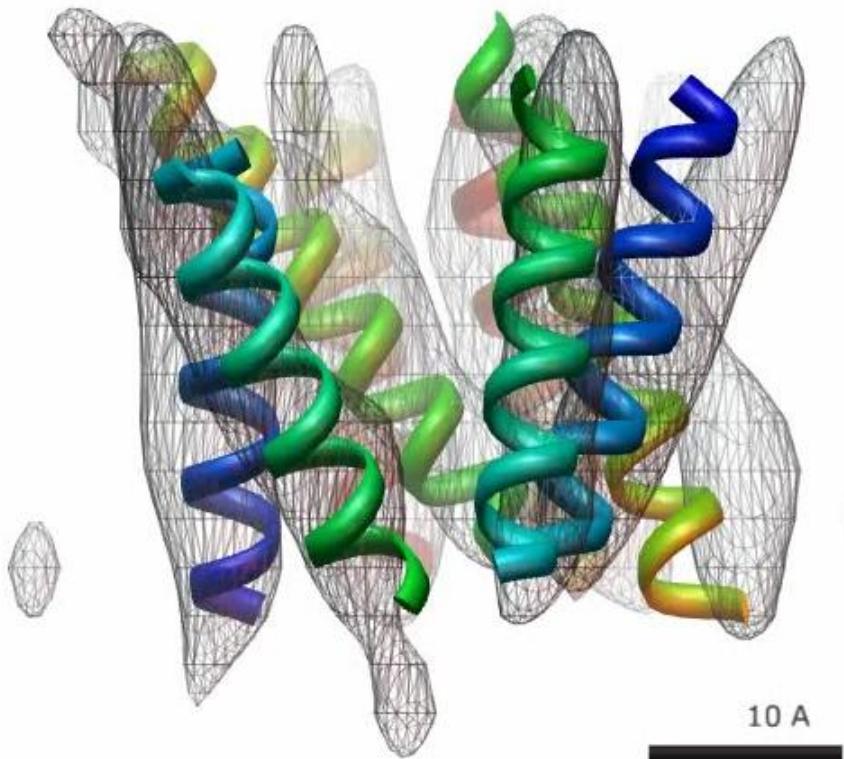


平面状の結晶：X線結晶学と似た手法で解析

# データを眺める：2-D Crystal



EMDB-ID 1079 / PDB-ID 1GZM  
牛メタロドプシン  
(原子モデルは牛ロドプシン)  
5.5 Å 分解能



EMDB-ID 1087 / PDB-ID 2I68  
大腸菌EmrE (多種薬剤輸送体)  
7.5 Å 分解能

# データを眺める：ギャラリーを眺めよう

ウイルスの構造が多い

大きい、対称性が高いなど、高分解能解析に有利

リボソームの構造が多い

同じようにみえても、多様な中間状態の構造

結晶のデータは少ない

結晶解析に成功したデータはPDBに登録される

# データを眺める：分解能についての「よもやま話」

## 分解能のチャンピオンはどんなデータ？

テーブルページで、分解能でソートすれば簡単にわかる  
どんな解析をしてどんな様子が見えたのか？

## 分解能のグラフを見てみよう

例えば、ID:1044, 1440 など、FSCプロットが登録  
たくさん平均しないほうがいい？

例えば、ID:1377~1390

## 分解能の悪いデータはどう？

分解能は高ければ高いほど良い

では、低い分解能のデータは良くないデータ？

## #1 3次元電顕の基礎知識

解析手法、データの意味、内容についての簡単な紹介

## #2 EM Navigatorの使い方

ウェブサイトの紹介

## #3 データを眺める

多数のデータを「眺める」ことにより分かることの話

## #4 さわってみる

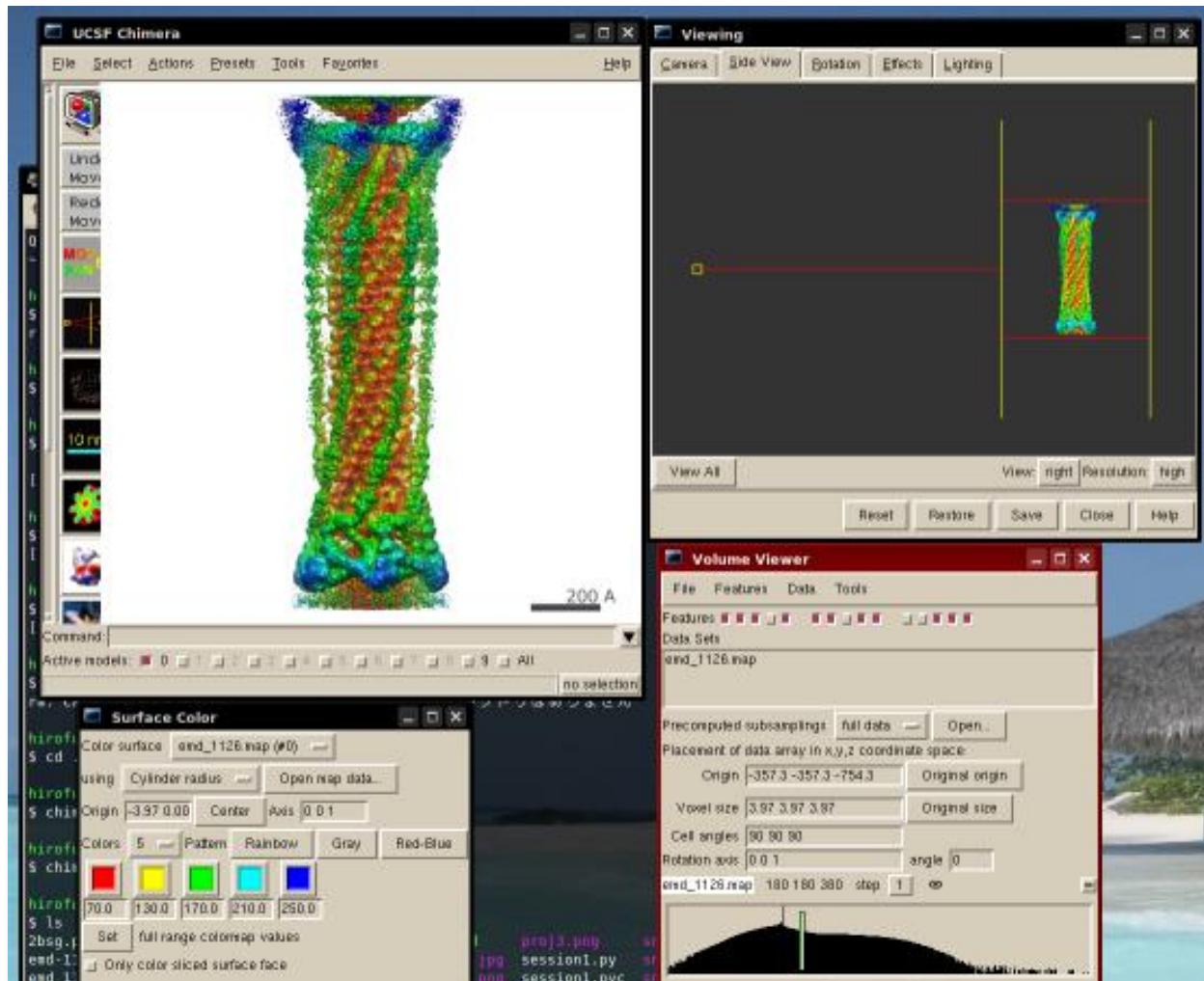
実際に3次元マップをさわってみる

UCSF-chimeraを使用

# さわってみる：UCSF-Chimera

## UCSF-Chimera (分子表示ソフト)

3次元電顕データ用としてはデファクトスタンダード  
EM-Navigatorのムービーは全てこのソフトによるもの  
(ライセンス条件に注意、営利的利用は有償)



# さわってみる：EM Navigatorと同じ条件で見る

EM-Navigatorでは、全ムービー（現在870本）の表示条件ファイル（セッションファイル）を公開している

UCSF Chimeraで開けば、表示・操作、各種解析が可能

## 表示方法

1. ダウンロードする
  - chimera sessionファイル (pyファイル)
  - マップファイル (mapファイル)
2. UCSF-chimeraでpyファイルを開く
3. mapファイルの場所を尋ねられるので指定

## 操作方法

マウス左ボタンで回転

（画面の内側と外側では回転方式が異なる）

マウス中ボタンで移動

+Ctrlキーで、前後に移動

など

# さわってみる：モデルをあてはめてみる

複数のモデル（原子モデル・マップ）を同時に開けば、モデルの当てはめ（重ね合わせ）も可能

## モデルの移動、原子モデルの手動当てはめ

メニュー → Favorites → Model Panel  
動かしたいモデルをActiveにして操作

## 簡易自動当てはめ

(大まかな手動当てはめの後の操作)  
メニュー → Tools → Volume Data → Fit Model in Map  
あてはめるモデルをActiveにしてFitボタンを押すだけ

(上記の操作は、ノートパソコンの画面と性能では難しいかもしれない)