

複雑な構造 (電子顕微鏡構造・複合体構造) の見方

鈴木博文
大阪大学 蛋白質研究所・PDBj

DDBJing 講習会 & PDBj 講習会
2011-01-17 長浜バイオ大学

1

概要

- 「**EM Navigator**」と「**万見 (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： 生体分子構造研究の経験がない・少ないユーザー

※ 時間の都合で、講習内容を一部省略する可能性があります。ご了承ください。

2

体験 1 : EM Navigatorを開いてみる

3

EM Navigator を開く

手順 : キーワード「em navigator」でWeb検索
または、PDBjトップページの左フレーム、
「検索」の中の「EM Navigator」をクリック



4

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
- ページ上部「データを見る」
データベースサイトによくある検索ボックスなど
- ページ中「ムービースロット」
EM Navigatorの最大の特徴は、このムービー
- ページ左下「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」

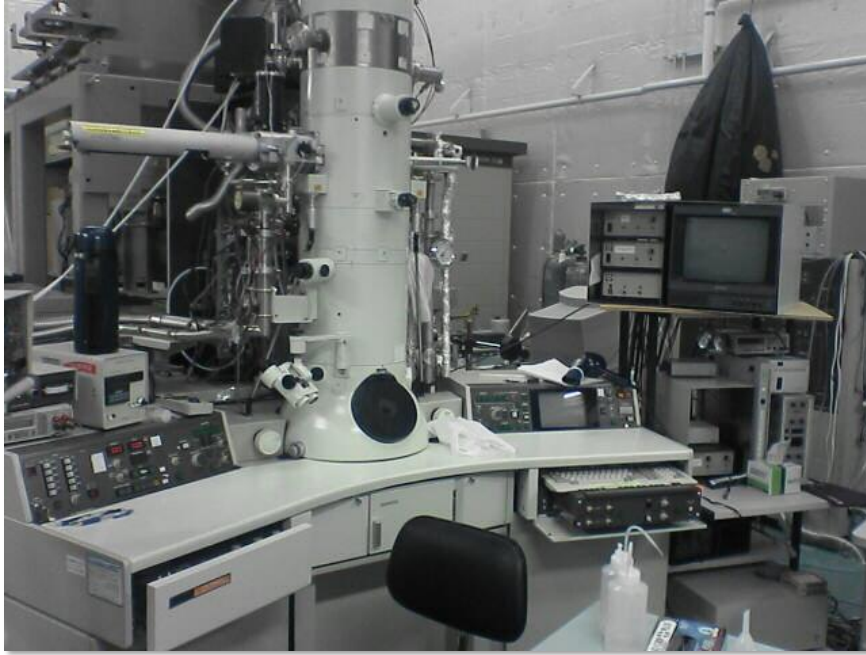
5

解説 1：

「3次元電子顕微鏡」とは？

6

電子顕微鏡ってなに？



電子顕微鏡（電顕・EM）

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

7

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
とても小さい
- **「光」**では見るできない
(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」におきかえた顕微鏡：
電子顕微鏡（Electron Microscopy: EM）

8

3次元電子顕微鏡とは？

電子顕微鏡写真の問題点

- ・ ノイズが強い
- ・ 2次元 (3次元で見たい！)

その対策 (画像解析などのコンピュータ処理)

- ・ 「電子線トモグラフィー」
- ・ 「単粒子解析」
- ・ 「電子線結晶学」
など

これらの総称が、3次元電子顕微鏡 (3D-EM)

9

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
原子モデル作成は難しい

利点：「生き生きとした」姿を見ることができる

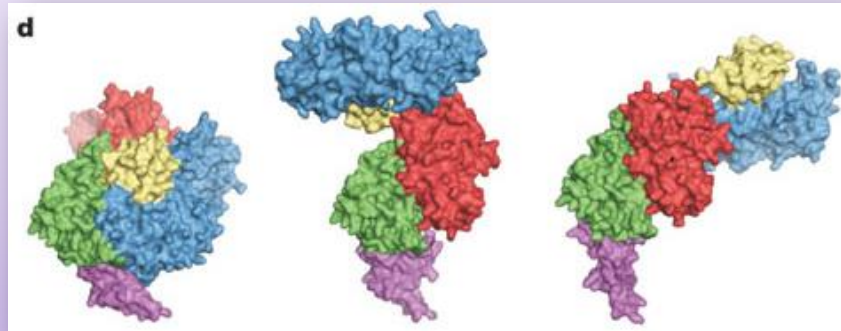
試料調整のハードルが低い (一般に)
コンピュータの中での「抽出・精製」も可能
大きな試料が得意

X線結晶学・NMRとは真逆で相補的

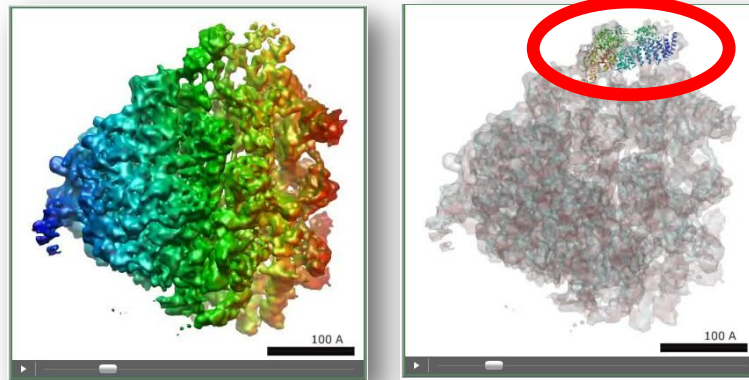
10

「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



11

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

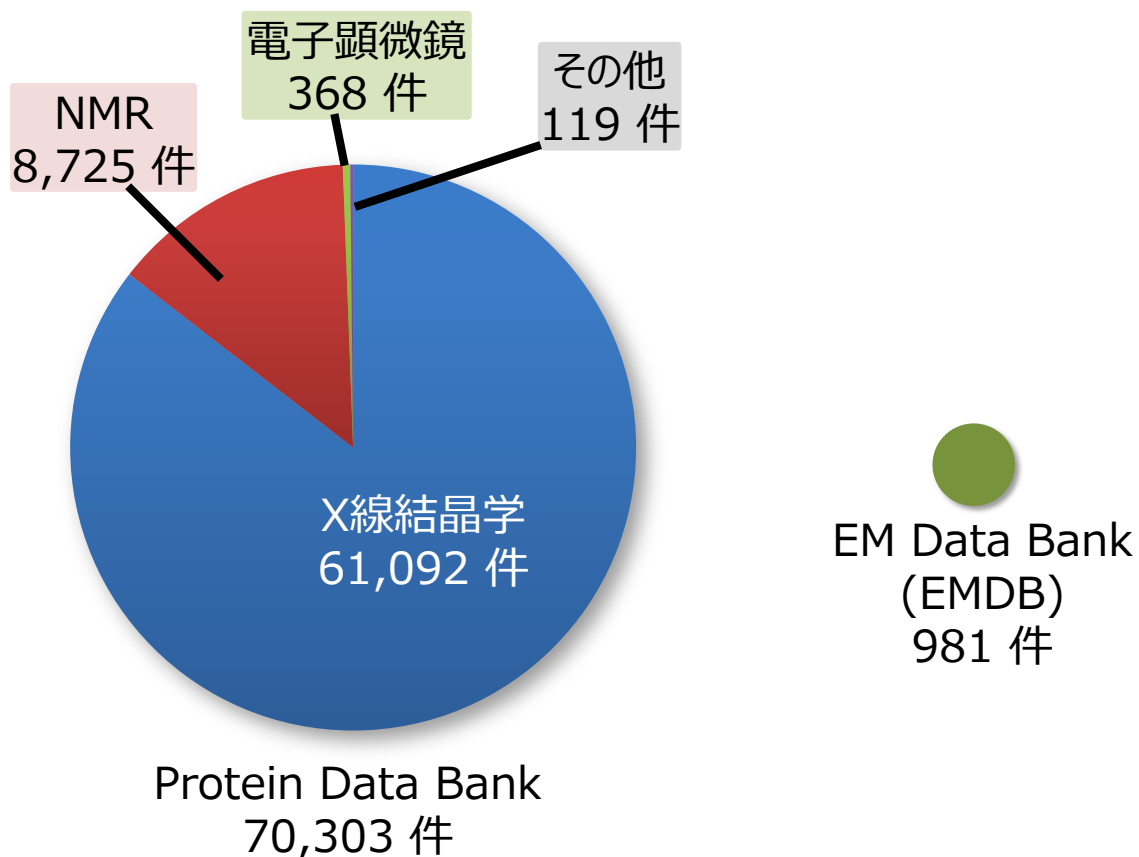
12

解説 2:

3次元電子顕微鏡と データベース

13

データベースの中の3次元電子顕微鏡構造



14

PDB と EMDB

PDBでは原子座標が主データ（必須）
→多くの3次元電子顕微鏡データは**対象外**

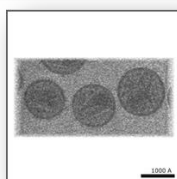
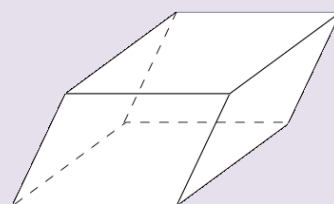
2002年に欧州のEBIがEM Data Bank(EMDB)を設立
(現在は米国RCSB・NCMIとともに運営)

EMDBでは**「3次元マップ」**が主データ
PDBと同様、試料や実験条件などの付随情報も

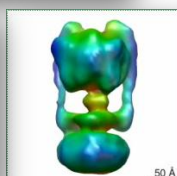
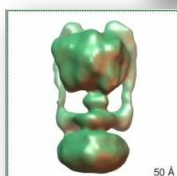
15

3次元マップってなに？

- 3次元空間の中の密度（濃い・薄い）の分布
- カタチを表しているのではない
形状は平行6面体（多くは立方体）で、
その中に「濃い」部分と「薄い」部分がある
- X線結晶学での「電子密度マップ」に相当
「電子密度」ではなく「静電ポテンシャル」に関係
ただし、この違いが意味をもつことは少ない



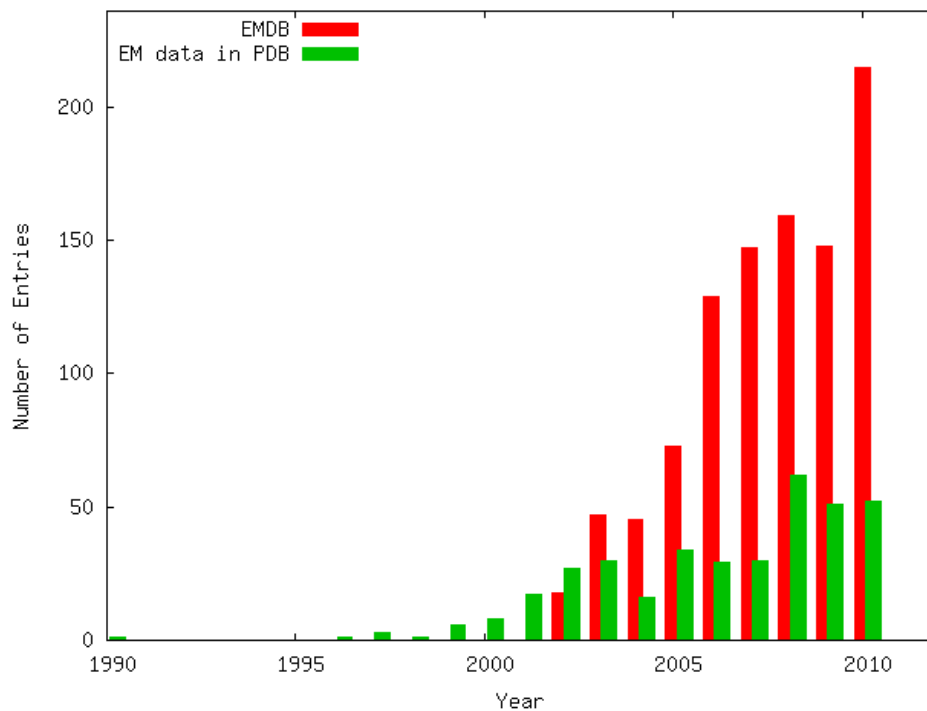
半透明のグレーの図（ソリッド図）：
ノイズが強いデータで利用
色の濃さで密度を表現



当数値面図（等高面図）：
色は、左が断面の「密度」、
右はある点・直線・面からの距離を表現

16

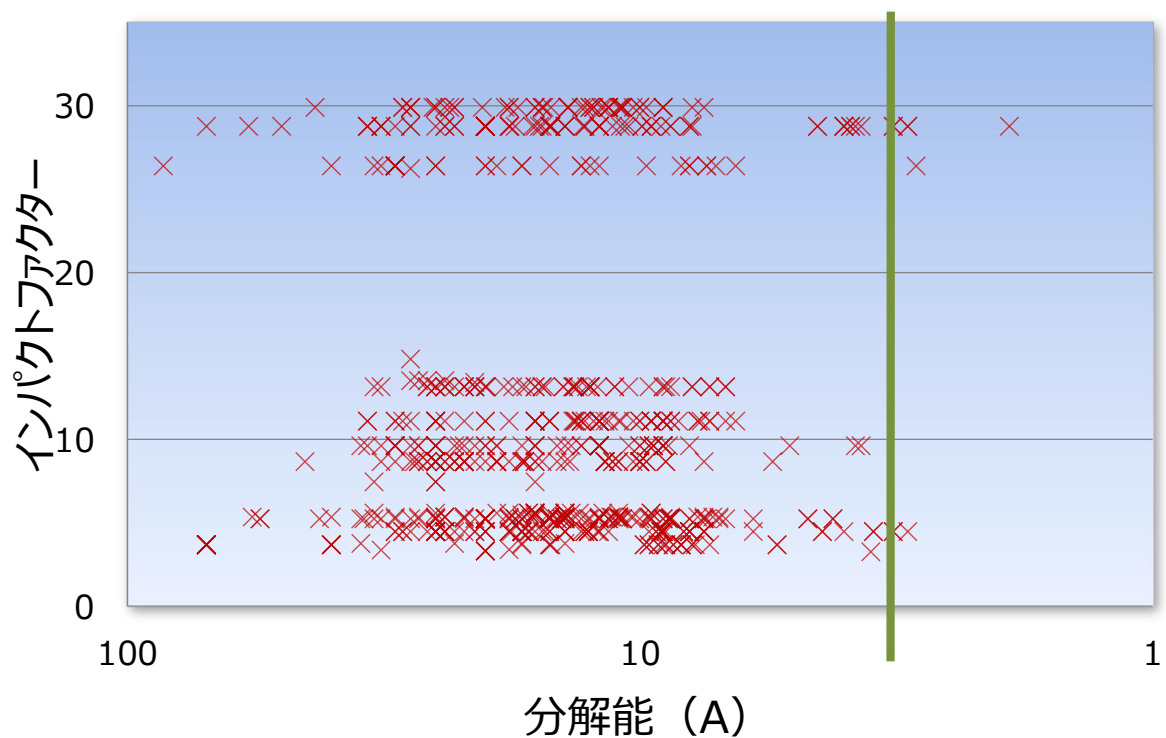
データ登録数の推移



EMDB と PDB のデータ登録数の推移

17

分解能と注目度の関係



3次元電子顕微鏡による研究成果は、
分解能に関係なくトップジャーナルにも掲載

18

やっぱり原子モデルがほしい

高分解能 ($\sim 4 \text{ \AA}$ 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)

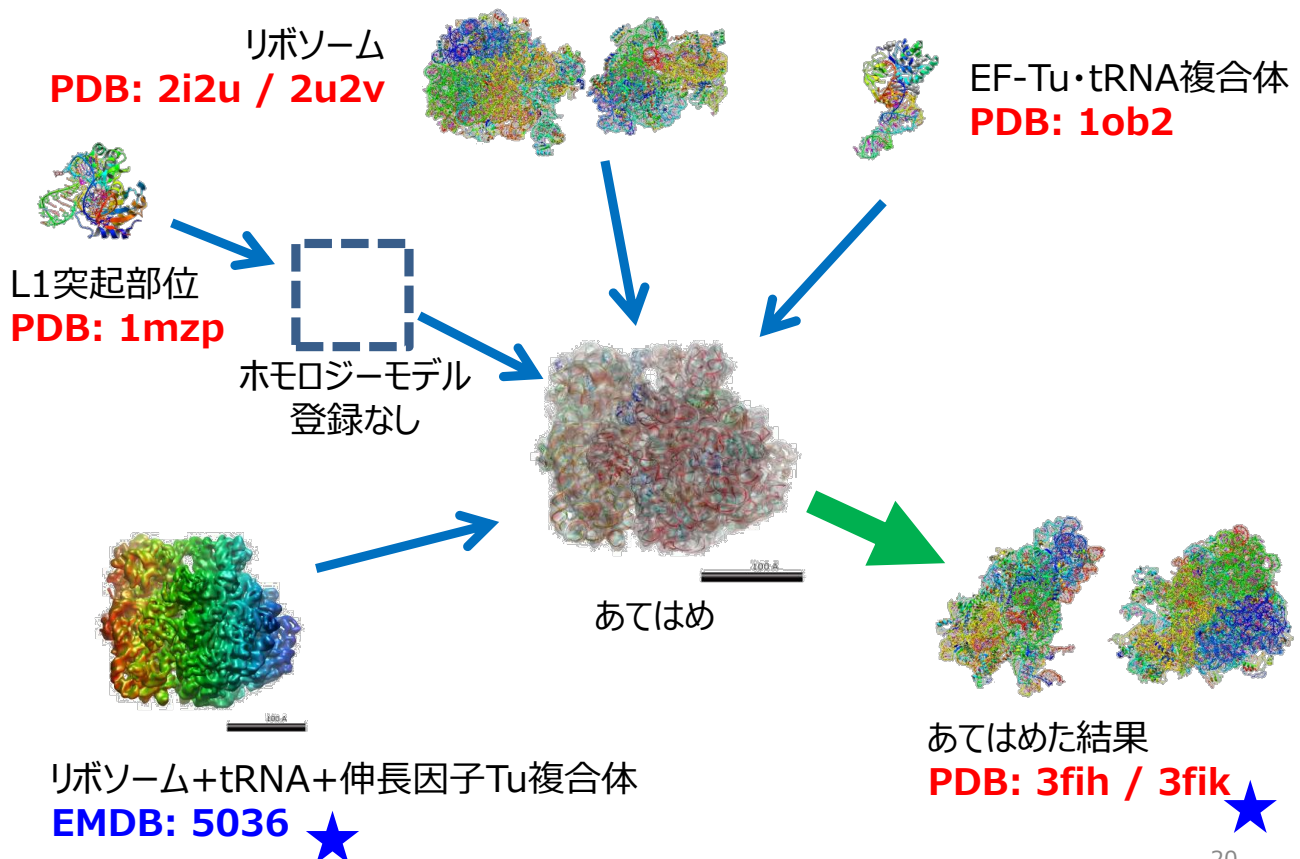
低分解能の場合

既知の原子モデルを使えば、限定的に可能
(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

19

ハイブリッド構造解析とデータベース



(Villa E. *et al.*, *PNAS*, 2009)

20

まとめ

- EMDB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の主データは、「**3次元マップ**」
- 登録数は増加傾向、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

21

体験2:

PDBとEMDBのデータを見てみる

22

PDBのデータを見てみる

手順： トップページ上部の入力ボックスにIDを入力
IDの例：3gzu, 1brdなど



PDB-3gzuの詳細ページ

23

PDBのデータを見てみる

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
PDBjMineの詳細ページと同じ趣旨だが、
独特の付随情報（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)

24

EMDBのデータを見る

手順 1 : トップページ→入力ボックスに IDを入力
IDの例 : 1155, 1542, 1604



EMDB-1155



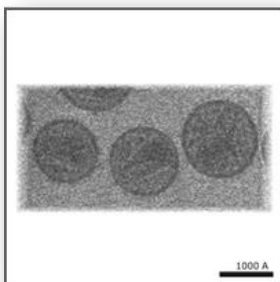
EMDB-1542

25

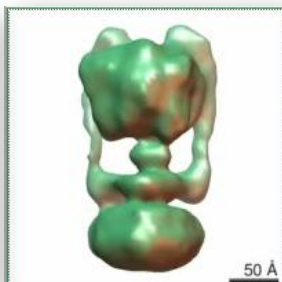
EMDBのデータを見る

チェック

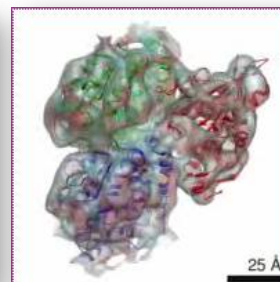
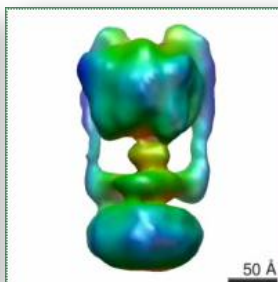
- ページ全体
PDBデータのページとほぼ同じ
- ムービー
クリックで再生、スライダーでシーク、回転・断面表示など
「ムービー」の画像クリックで、ムービーの種類が切り替わる
- ムービーにはいくつかの種類がある
グレーの半透明のもの、単色・グラデーションの表面図、
原子モデルとの重ね合わせ



EMDB-1155



EMDB-1542



EMDB-1604

26

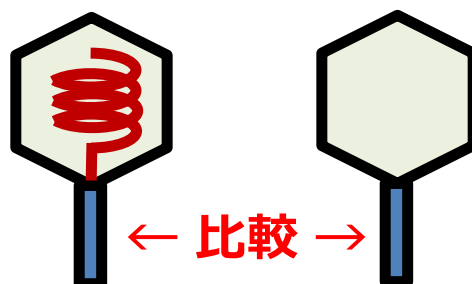
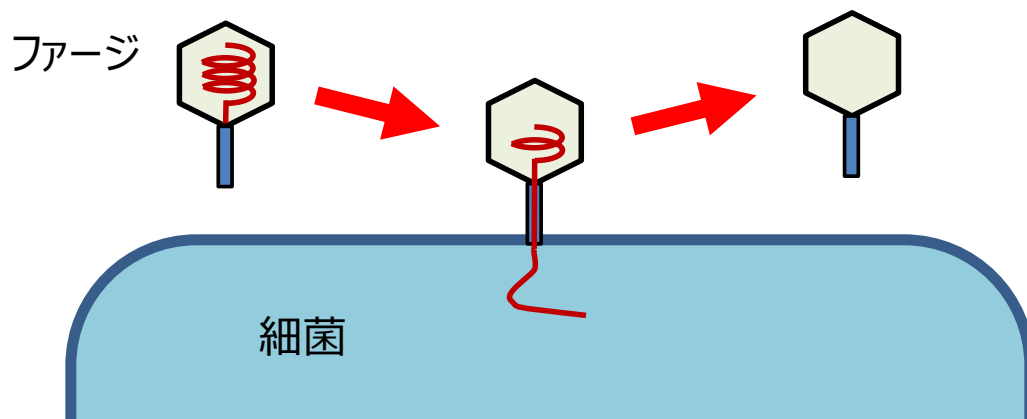
体験 3 :

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

27

バクテリオファージDNAの注入



28

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、ページ右上部の「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

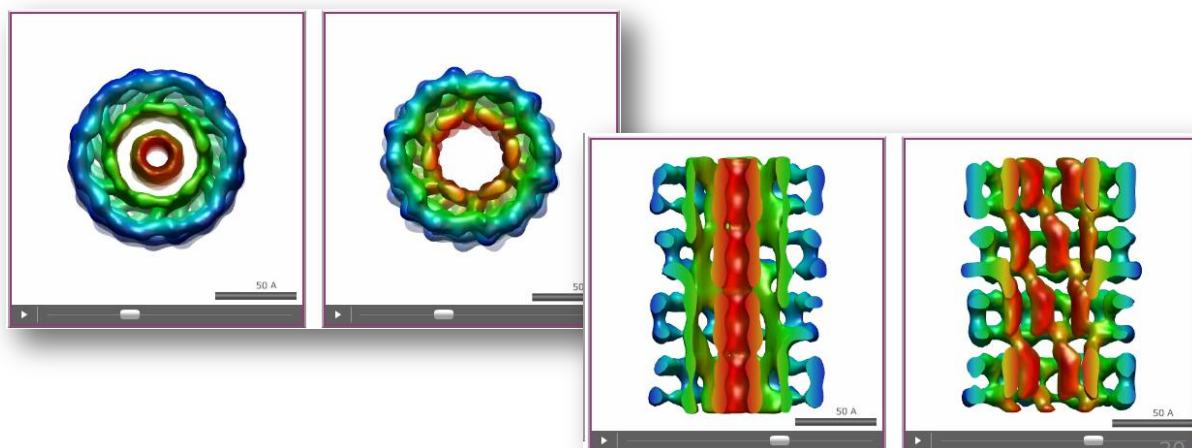
チェック

・ムービー

ムービーの操作パネルでは、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

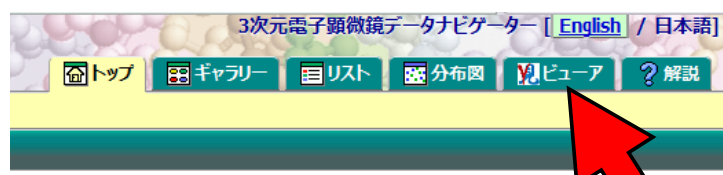


講習 3 : 万見(Yorodumi)とは？

31

「万見」ってなに？

- 「3次元構造を見る」ことを主題としたサイト
- 複雑な構造やそのデータの意味を、簡単な操作でわかりやすく、見たり知ったりできるページを目指した
(特に電子顕微鏡データは複雑なので)
- PDBとEMDBのほとんどの構造を見られる



入り口ページへのリンク

32

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
マウス操作でウインドウのように移動・表示・非表示が可能

33

類似するサイトとの違い

データベースの付随情報と連動

(アミノ酸配列・基質結合部位情報など)



基質結合部位の選択

アミノ酸配列で選択

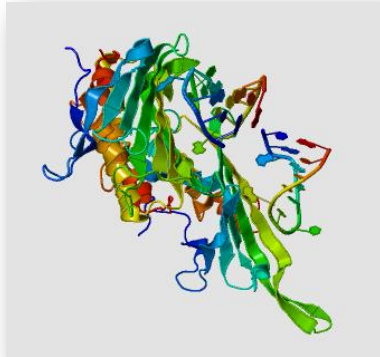
PDB-3icj

34

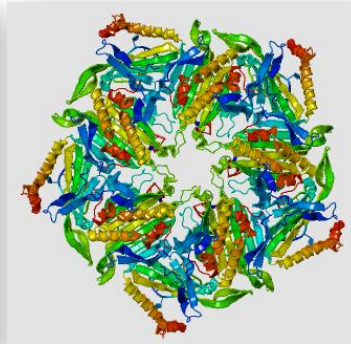
類似するサイトとの違い

集合体構造を簡単に表示

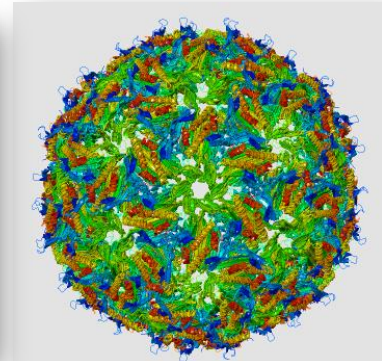
Biological assembly (生物学的集合体) 等の集合体構造



非対称単位



5量体



完全な正20面体
対称構造

PDB-2iz8: ウイルスキャプシド

35

実習4：

「万見」を試してみる

36

「万見」をひらく

手順： 入力ボックスにIDを入力し、エンターキーを押さずに
「万見（構造ビューア）」のリンクをクリック

IDの例：5039, 2iz8



37

「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、今回はJmolのみを使用
- ページ左上のパネルに「設定ボタン」
「多機能」モードにチェック（今回は「多機能」で使用）
- 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

38

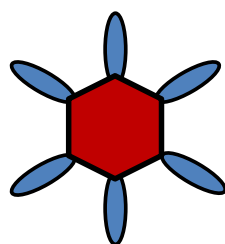
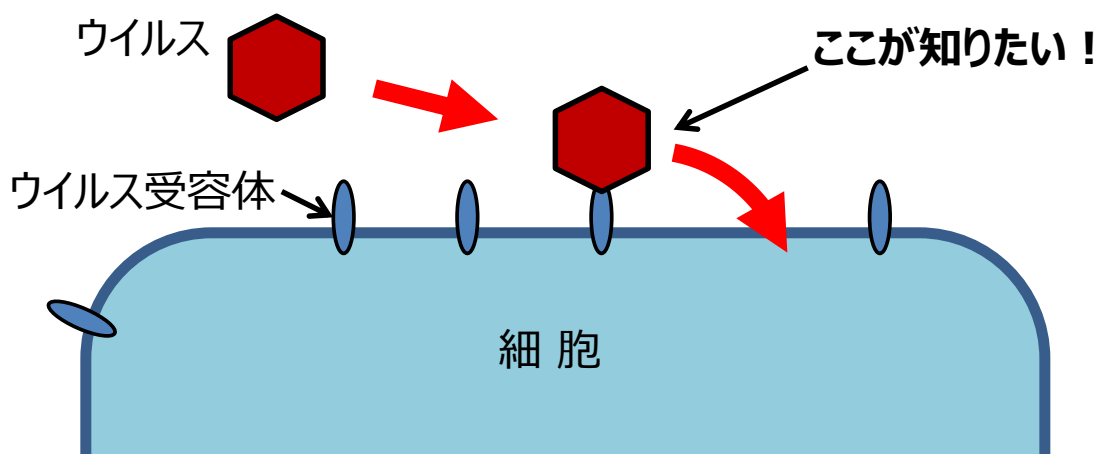
実習 5 :

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

39

ウイルスと受容体の構造解析

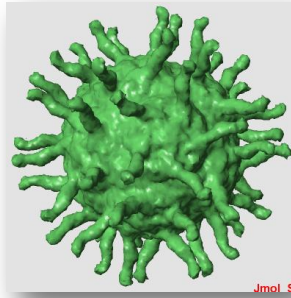


受容体で飽和した
ウイルスを構造解析

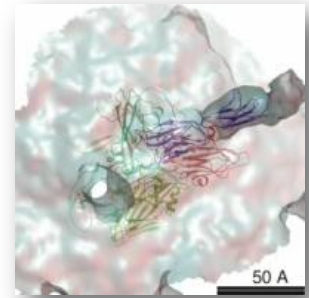
40

ポリオウイルスの例

EMDB-1562
万見



原子モデルとの重ね
合わせのムービー
EM Navigator



PDB-3epd
万見

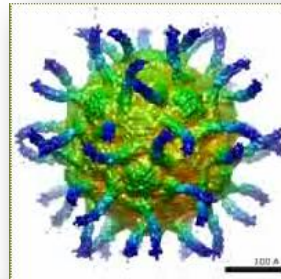
構成要素パネル
chain-Rボタン
を押す

→ Nectin-like protein (受容体) が選択される

41

コクサッキーウイルスの例

EMDB-1562
EM Navigator



PDB-1z7z
万見

完全な正20面体集合体を表示し、受容体を選択

42

実習 6 :

タバコモザイクウイルス (TMV) の RNAの配置を見る

43

TMVのらせん対称集合体の構造

手順

- 「万見」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



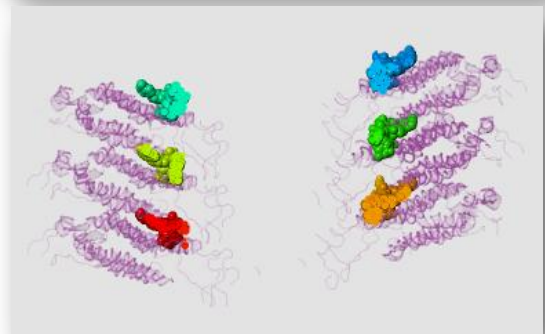
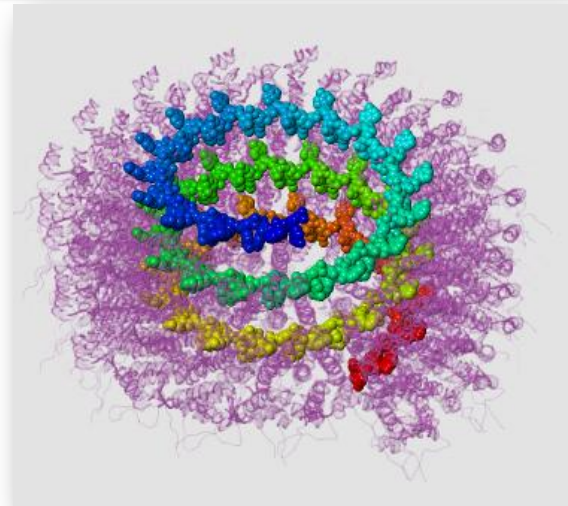
44

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://e-prots.pdbj.org/mom/mom109_ja.html



45

表示パネル、「断面」スライダーで
断面図を表示

実習 7 :

F1-ATPaseのADP結合部位を見る

46

F1-ATPaseのADP結合部位

手順

- 「万見」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

47

F1-ATPaseのADP結合部位



48

最後に

49

EM Navigator の解説ページ



3次元電子顕微鏡データナビゲーター [English / 日本語]

EM Navigator

トップ ギャラリー リスト 分布図 ビューア ? 解説

PDBj PDBj > EM Navigator > ? 解説ページ

トピックス

- [EM Navigatorとは？](#)
- [FAQ](#)

その他

- [用語集](#)
- [お知らせ](#)
- [統計情報](#)
- [関連サイト・ソフトウェア](#)
- [Omokageプロジェクト](#)
- [すべて](#)
- [PDBjヘルプ](#)

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 ([統計情報](#))
- 分子・構造生物学の専門家にも、初心者や専門外のかたにも利用していただけるサイトを目指しています。
- [PDBj](#)が運営しています。

FAQ

3D-EMとデータベース

Q: EMDBとPDBは何が違うのですか？

Q: 3D-EMとは、低温電子顕微鏡法 (クライオ電顕、cryo-EM) のことですか？

Q: 「EMD」とは何ですか？

EMDBのマップデータについて

Q: FTPサーバーのURLは？

Q: マップデータとは電子密度マップのことですか？

50

「万見画廊」ページ

Yorodumi 万見

万見 (Yorodumi) - 生命のカラクリにさわる [English / 日本語]

トピック

- 万見をはじめる
- 万見とは?
- 万見画廊
- 関連情報・リンク
- すべて表示

万見画廊

口蹄疫ウイルスの殻

口蹄疫ウイルスキャプシドの正20面体対称構造
データエントリ: PDB-1bbt

- 万見で見る
- データの詳細

表示方法:

- ビューアをJmolにする
- 正20面体対称集合体を表示するには: 「データ」パネル - 「集合体」 - 「1: Cαのみ」(完全な正20面体集合体) ボタンを押す
- タンパク質の色を変更するには: 「スタイル」パネル - 「色」 - 「チェーン」ボタンを押す

39,720 atoms selected

PDBj PDBj お問い合わせ

表示例とチュートリアル

万見トップページ: <http://www.pdbj.org/emnavi/viewtop.php>

51

動画による解説

2010-08-02

[E8][タンパク質][可視化][二次構造] 万見(Yorodumi)の使い方～基本と連携～

万見(よろずみと読みます)は日本蛋白質データバンク(PDBj)が提供するタンパク質構造解析サービスです。万見は立体構造を見て楽しむことをコンセプトとしています。また、Uniprotとの連携により、詳細なデータを得ることも出来ます。

今回は万見によるシアロバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803由来Heme oxygenase-1(ヘムの脱鉄を行う酵素)の立体構造データをサンプルとしています。

Synechocystis由来Heme oxygenase-1の立体構造が表示されました！

各種パネルを表示するためのボタンです。パネルはマウス操作で位置・大きさ・表示・非表示などを変更できます。

このパネルには、現在表示しているデータエントリについての概要が表示されます。

データベースID: PDB-1jw1 - [他のデータ]

タイトル: Crystal structure of heme oxygenase-1 from cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803 in complex with heme Heme oxygenase 1 [E.C.1.14.99.3]

1: 著者による定義 (1分子, monomeric)
2: 著者による定義 (1分子, monomeric)

Generated by CAMTASIA STUDIO 6
この作品は、クリエイティブ・コモンズ・ライセンスの下でライセンスされています
原作者はライフサイエンス統合データベースセンターです [CC BY]

万見(Yorodumi)の使い方～基本と連携～ 統合TV
制作：統合データベースセンター

<http://togotv.dbcls.jp/20100802.html>

52

付 録

53

必要な環境

モダンなブラウザ

Internet Explorer 7以上、Firefox 2以上、
Opera 10以上、Safari 5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、デフォルトで利用可能)

54