

CiCLE講習会・蛋白研セミナー「単粒子解析リモート講習会」

2021/01/18-2021/01/19

CiCLE

Cyclic Innovation for Clinical Empowerment

原子モデルの密度マップへの フィッティング演習 -UCSF Chimeraによる-

Takeshi Kawabata (Institute for Protein Research, Osaka Univ.)

川端 猛 (大阪大学 蛋白質研究所)

2021/01/19



再構成した3Dマップのキラリティ (handedness) について

3次元再構築のアルゴリズムは、原理的にキラリティ(handedness)が区別できないので、左右が反転した間違っただけのマップが生じる可能性があります。その場合、 α ヘリックスなどキラリティのある構造がうまくはまりません....

Relionでは以下のコマンドで、キラリティを反転させることができます。

```
relion_image_handler --invert_hand --i [入力マップ (*.mrc)] --o [出力マップ (*.mrc)]
```

Relionのコマンド例

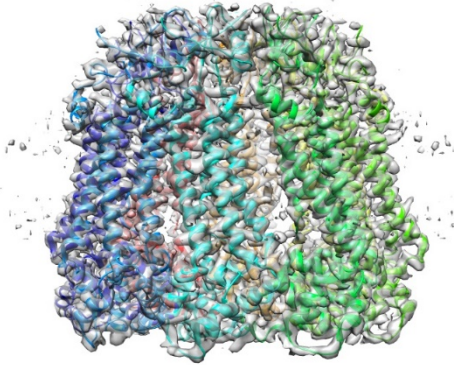
```
relion_image_handler -invert_hand --i postprocess_masked.mrc  
--o postprocess_masked_inv.mrc
```

UCSF Chimeraの以下のコマンドで反転させることもできます

```
Command: vop zflip #0
```

Fit docked structure into undocked map

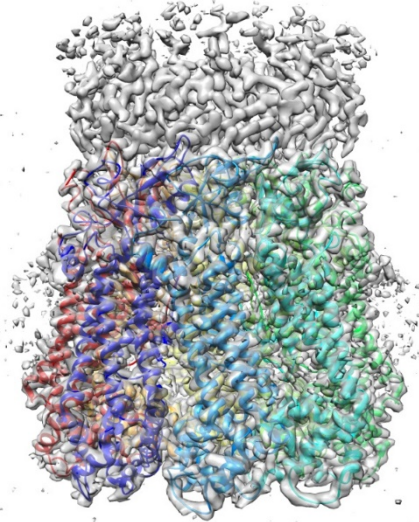
Undocked innexin-6 hemichannel



EMD-9973/PDB_ID:6kfh

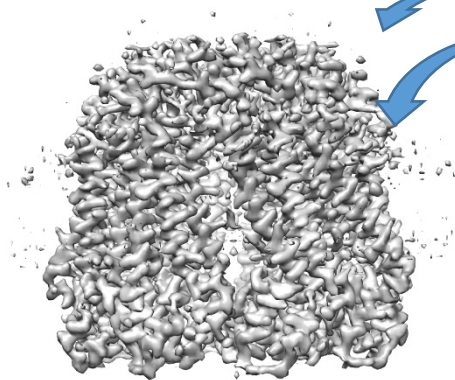
Burendei, B.,Shinozaki, R.,Watanabe, M.,Terada, T.,Tani, K.,Fujiyoshi, Y.,Oshima, A. *Sci Adv*, 6:eaax3157-eaax3157, **2020**

Docked innexin-6

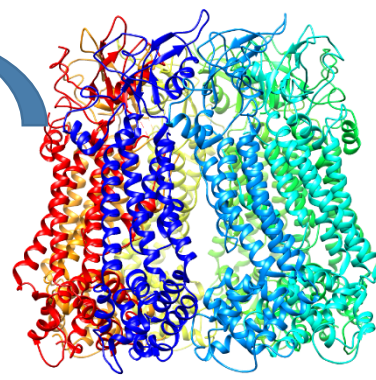


EMD-9570/PDB_ID:5h1q

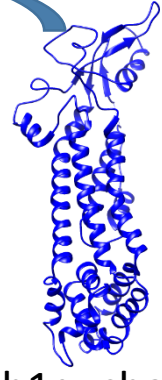
Oshima, A.,Tani, K.,Fujiyoshi, Y.*Nat Commun*, 7:13681-13681, **2016**



EMD-9973



PDB_ID:5h1q



5h1q chain A

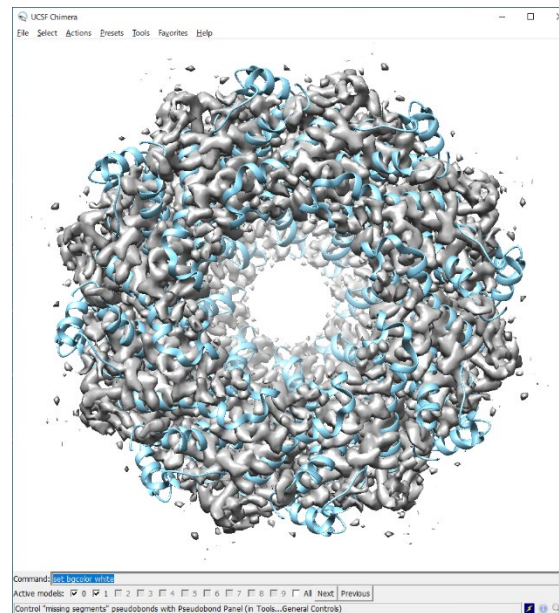
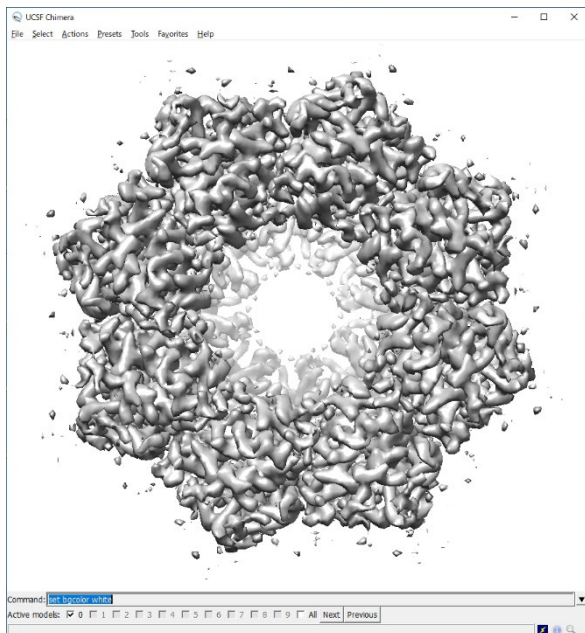
UCSF Chimeraの起動



1) デスクトップの”Chimera”のアイコンをクリックして、UCSF Chimeraを起動

2) [File]→[Open...]で、FITTING_MODEL/postprocess_maked_inv.mrc を開く

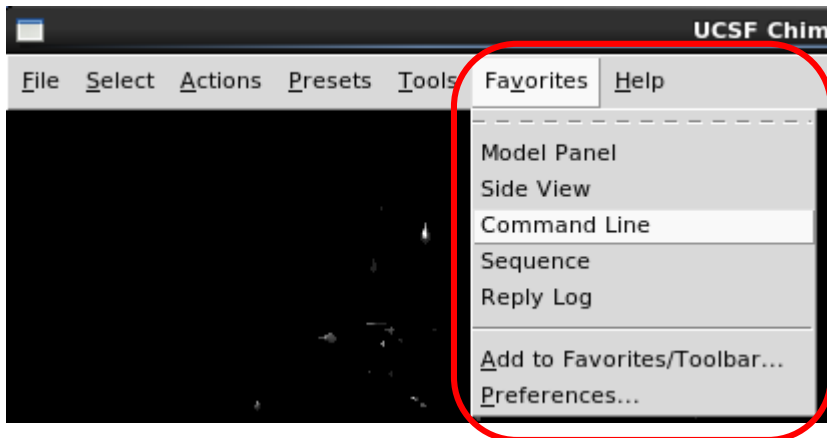
3) [File]→[Open...]で、FITTING_MODEL/pdb6kfh.ent を開く



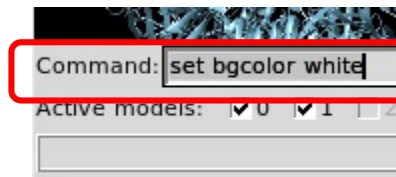
マップと原子モデルが
離れて表示される。

UCSF Chimeraのコマンドラインの使い方

1) [Favorites]→[Command Line]を選択



2) 画面左下にコマンドライン Command:が表示されます。

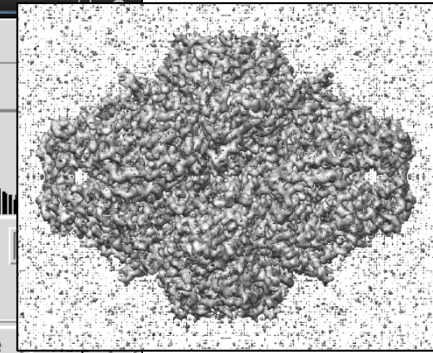
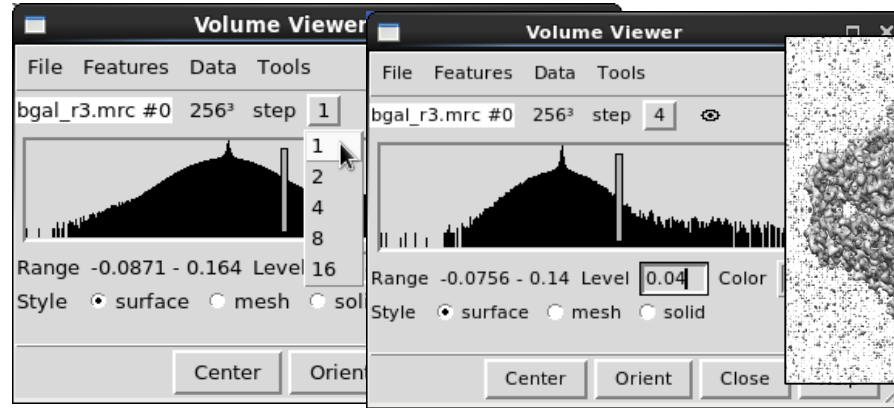
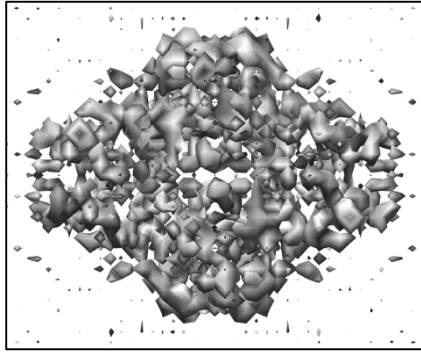


演習で使うと便利なコマンド:

コマンド	意味
set bgcolor white	背景を白にする
rainbow chain	鎖ごとに色分けする
rainbow residue	残基順に色分けする
rainbow model	モデルごとに色分けする

Volume Viewerの使い方

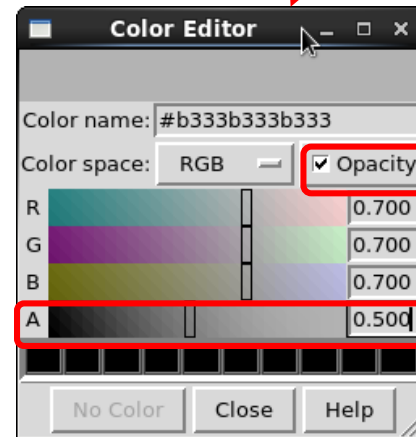
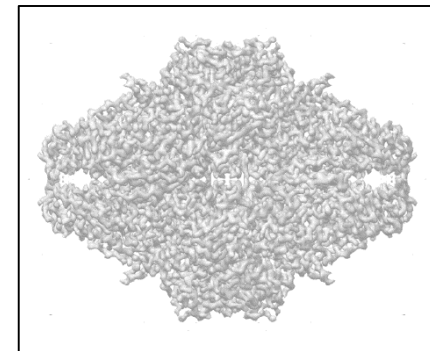
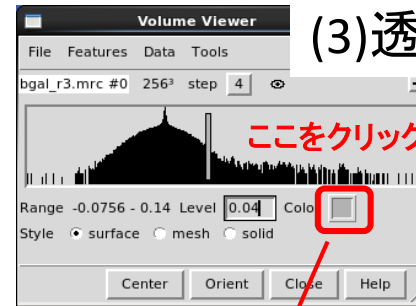
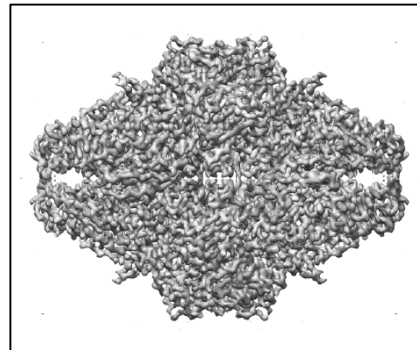
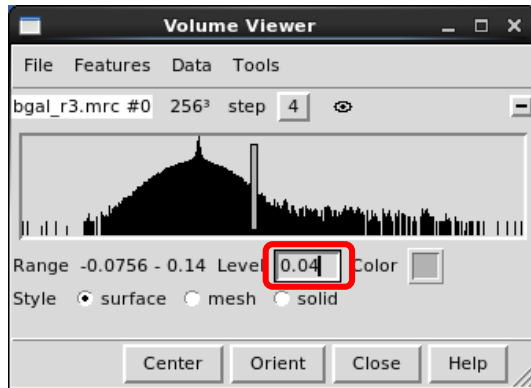
(1) Stepの変更。stepを4から1に変える。



Step=4とは4x4x4の画素を一つの画素で粗く表示すること。

(2) Levelの変更。0.0245から0.04に変える。

(3)透過度(Alpha)を変える

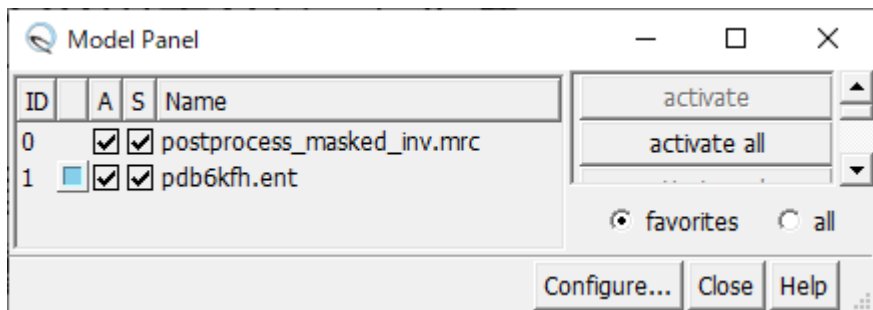


Opacityを☑

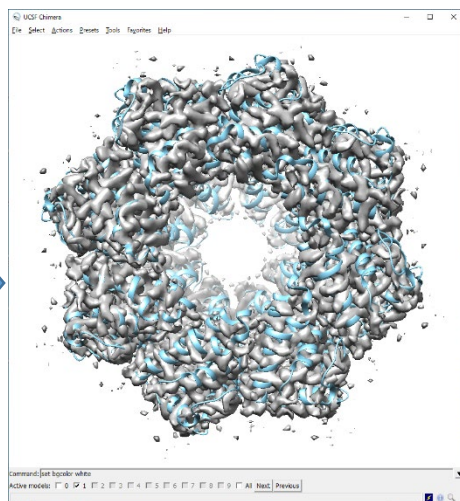
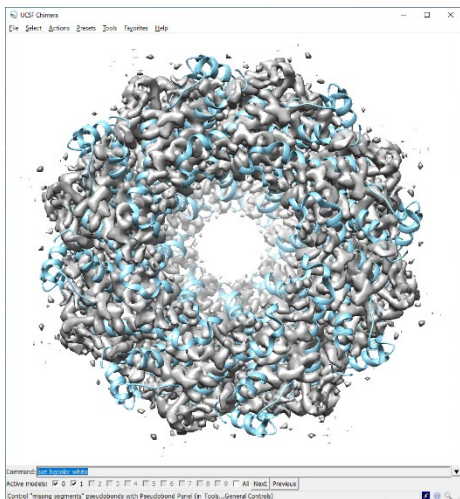
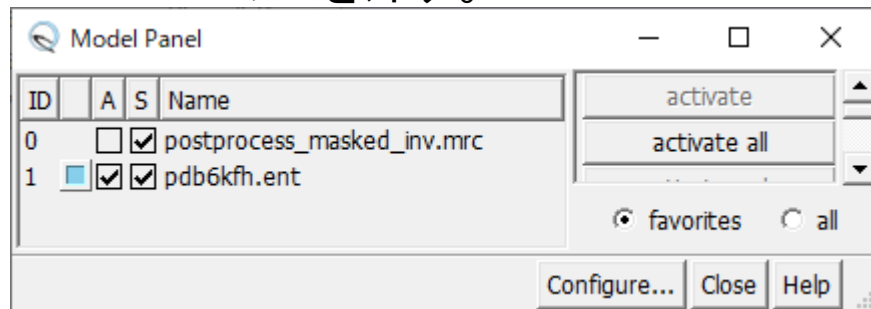
パラメータAを小さくすると透明になる。

手作業による重ね合わせ

1) [Favorites]→[Model Panel]
でモデルパネルを表示



2) postprocess_masked_inv.mrcの
Active の☑を外す。



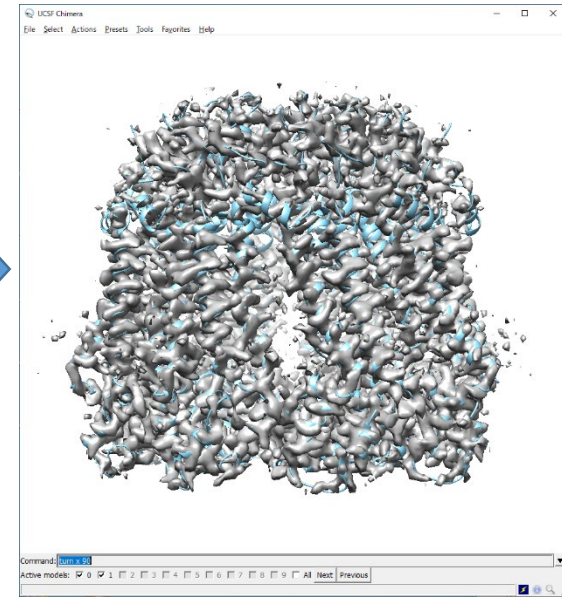
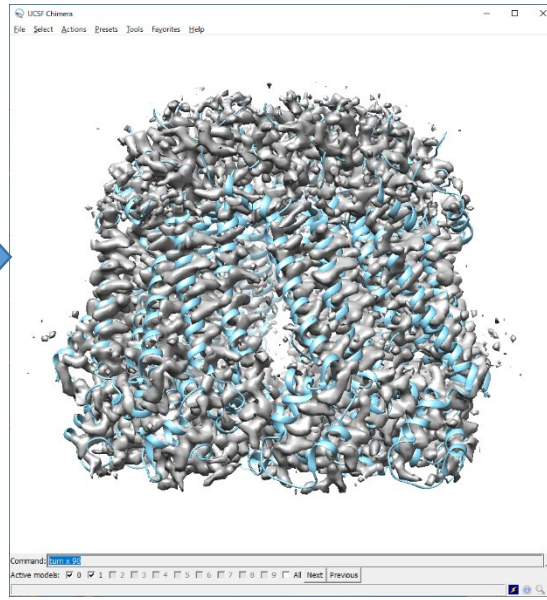
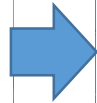
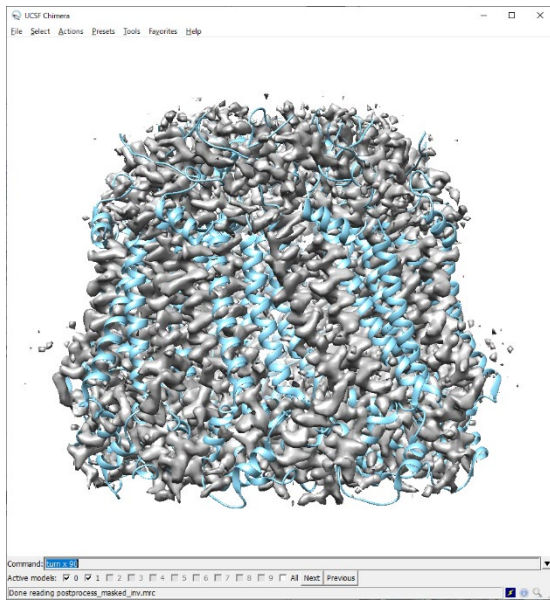
マウスの左ボタン	回転
マウスの右ボタン	拡大・縮小
マウスの中ボタン	並進

ID	A	S	Name
0	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	postprocess_masked_inv.mrc
1	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	pdb6kfh.ent

3) すると、マップは固定され、原子モデルだけが動くようになる。マウスの左ボタンドラッグによる回転、中ボタンドラッグによる並進で原子モデルの位置を調整する。

4) 両方の向きを変えたい場合は、postprocess_masked_inv.mrcのActiveをまた☑す
ステップ1)--4)を繰り返して、
だいたいモデルとマップが重なるようにする。

Fit in Mapによる重ね合わせ

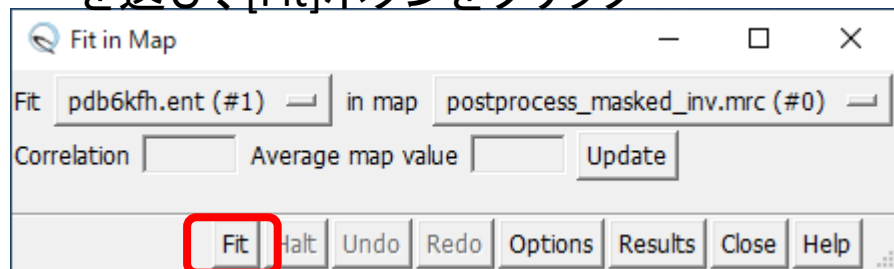
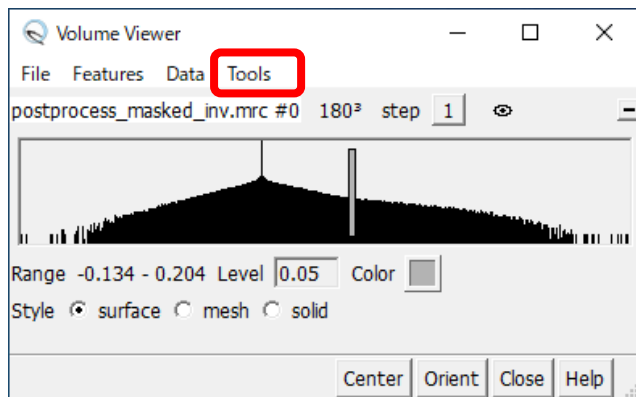


1) 手作業で重ね合わせたら、

3) 周辺で最も重なる姿勢に
原子モデルが回転・並進



2) VolumeViewerの[Tools]→[Fit in Map]
を選び、[Fit]ボタンをクリック



phenix.map_to_model
を用いた原子モデルの
デノボ・モデリング

phenix.map_to_modelの実行

(1)ディレクトリmap_to_modelの準備

```
cd EMPIAR-10291_50mic_2Dimg_3Dmrc
cd FITTING_MODEL
mkdir map_to_model
cd map_to_model
```

INX6_CAEEEL.fasta

```
>sp|Q9U3N4|INX6_CAEEEL Innexin-6 OS=Caenorhabditis elegans
MASQVGAINSVNALISRQVQPKGDLADRLNSRVTVVILAVSSALLLSSHFIGDPITCWT
PAQFNAQWVNFVNQYCFVHGTYFVPLDQQLAFEEEEERTKVS IQYYQWVPYVFALQAFIFY
IPRFIWKAMIAYSGYDLAAAVKYVDRFWSENRDKDDKFKTRLAFAFEGRPSVYIWDGIRLA
RKKRSRNMALFYTLSTVWQAVNAWIQFYILTQLLDSSIYTLWGPSILGDLLQNDWQTTG
HFPRIVHCDFNRRRPASVQLD TVLCVLT LNIYYEKLFI FLWFVLFVAVVSTVNCFKWIY
YLCNKTKAQKTIKNYLSTAPIKSTISDDQFFSALGEDGLFIMDQMALNLGDI PASYLTIS
MRNICQDFIESEDYIDEERTPFVKS IKHT
```

(2)map_to_modelの実行 (計算時間30分?)

```
nohup phenix.map_to_model ../emd_9973.map ../INX6_CAEEEL.fasta
symmetry=C8 resolution=3.6 nproc=6 > phenix.log &
```

※自分で計算したマップを用いる場合

```
cp ~/EMPIAR-10291_50mic/PostProcess/Refine3D_180pix_100mic_mask/postprocess_masked.mrc .
```

注)場合によっては、以下のコマンドで、handednessを反転させる必要があります

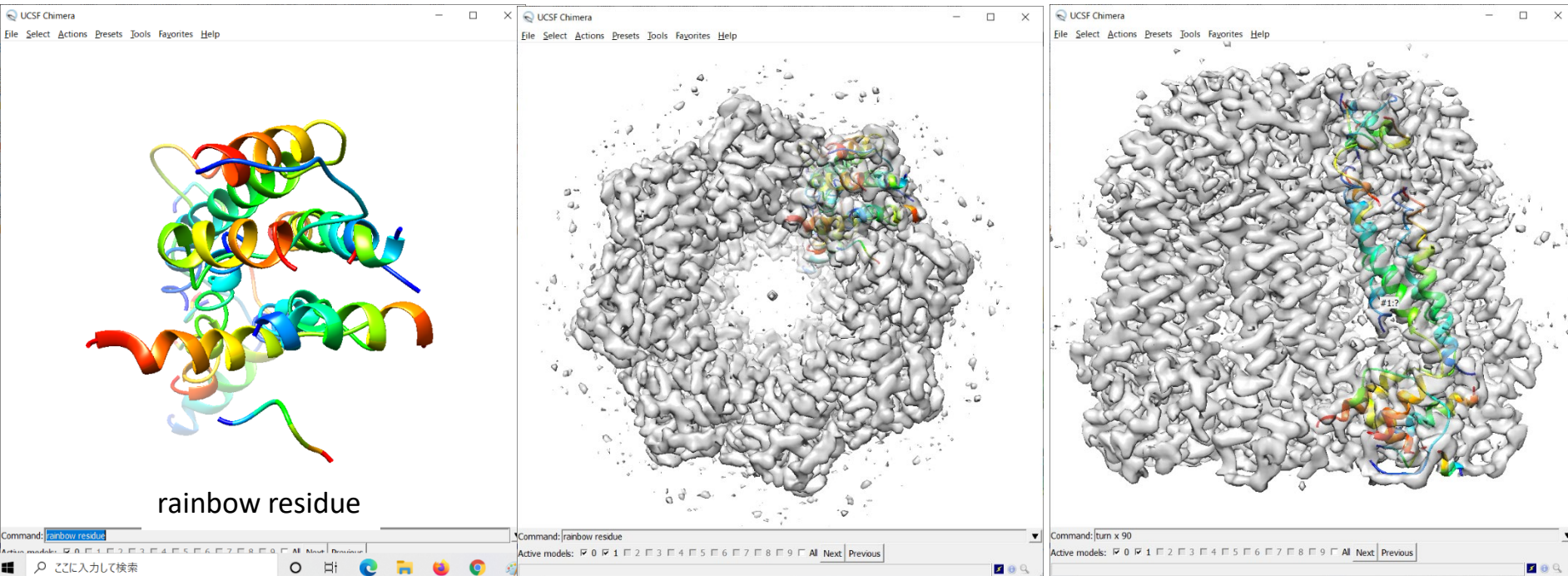
```
relicon_image_handler --i postprocess_masked.mrc --o postprocess_masked_inv.mrc
--invert_hand
```

```
nohup phenix.map_to_model postprocess_masked.mrc ../INX6_CAEEEL.fasta symmetry=C8
resolution=[自分のマップの分解能] nproc=6 > phenix.log &
```

Phenix.map_to_modelによるモデル構造の確認

FITTING_MODEL/map_to_model.pdb
をUCSF Chimeraで開く

結果の確認



[File]→[Open...]で、
emd_9973.map
を開く

側面から見た図