

2021年9月30日

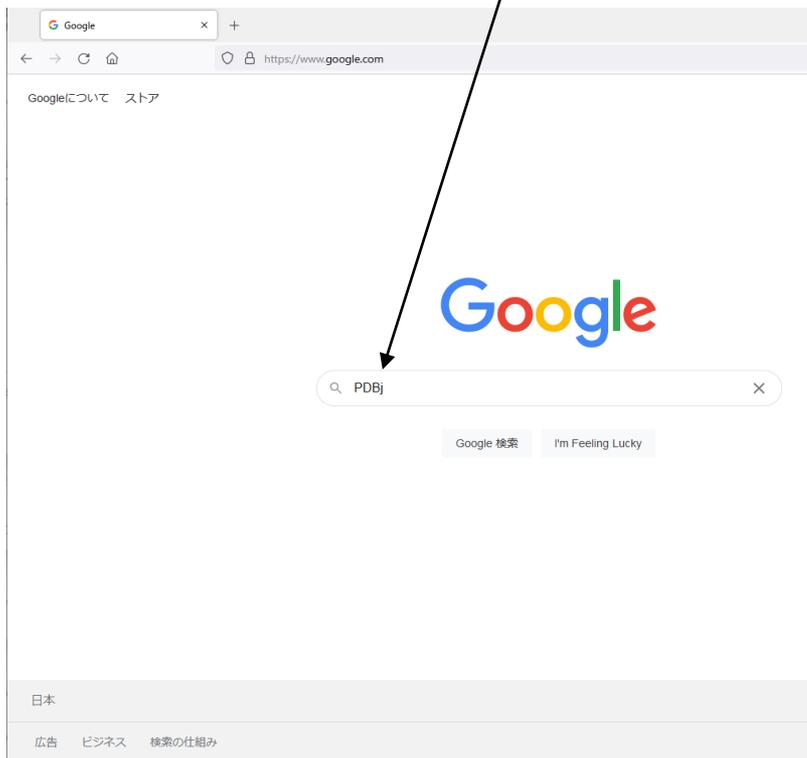
BINDS-PDB講習会「PDBから見てわかるタンパク質の最新研究」

PyMOLの使い方

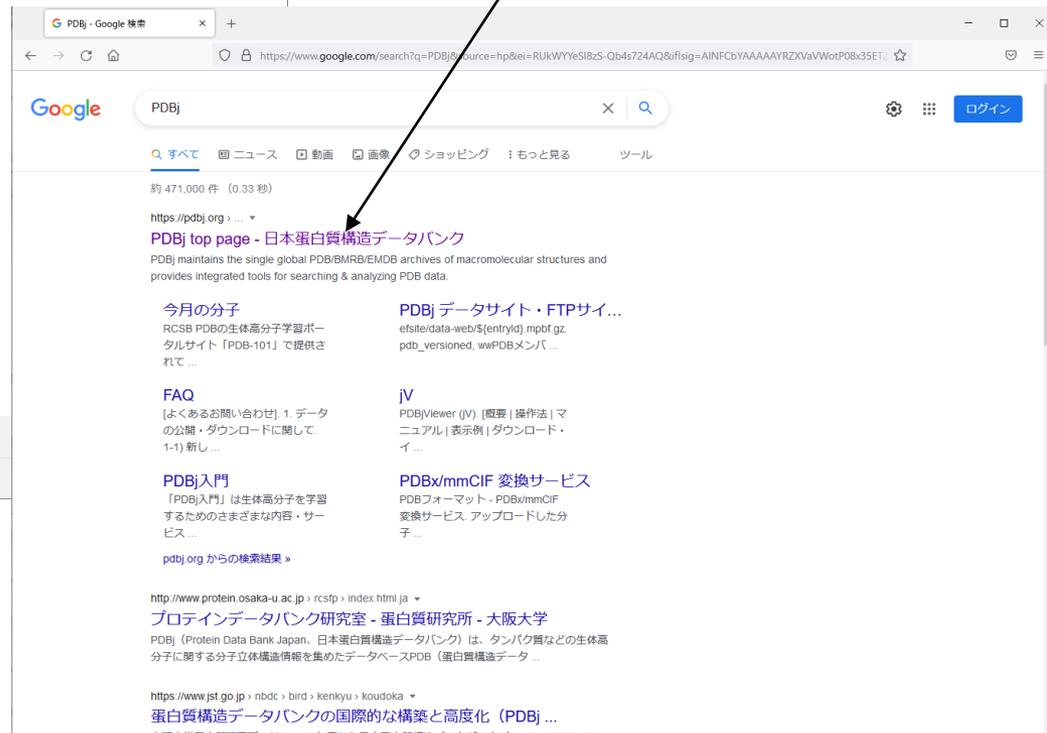
大阪大学蛋白質研究所
有森貴夫

PDBファイルの取得

① “PDBj”で検索



② クリック



PDBファイルの取得

③ PDB IDやキーワードで検索(今回はPDB IDである“7dmu”を入れて検索)



The screenshot shows the PDBj website interface. At the top, there is a search bar with the text "Search: pdbj.org" and a magnifying glass icon. An arrow points to this search bar. The page header includes the PDBj logo, navigation links for "English", "日本語", "简体中文", "繁體中文", and "한국어", and a search bar. The main content area is divided into several sections:

- Home:** Links to "トップページ", "統計情報", "ヘルプ", "FAQ", "お問い合わせ", "PDBjの引用・利用規約", "リンク集", and "Settings".
- データ登録 (OneDep):** Links to "ヘルプ" and "PDB, EMDB, BMRBへの登録".
- ダウンロード:** Link to "PDBアーカイブからのデータダウンロード".
- 標準フォーマット:** Links to "PDBx/mmCIFについて" and "フォーマット変換", and "PDBx/mmCIFエディタ".
- PDBjについて:** Text describing the Protein Data Bank Japan and its international partners (RCSB PDB, BMRB, EMBL-EBI, PDBe, JST-NBDC, AMED-BINDS).
- お知らせ:** News about the migration of PDBj FTP archives to data.pdbj.org.
- 必要なサービスを探す:** A section for finding services, with a list of checkboxes for PDB, BMRB, EMDB, 検索, 登録, ビューア, 教育/辞典, NMR, 電子顕微鏡, 二次構造, and 配列. A button "全サービスを表示" is also present.

On the right side, there are several featured items:

- 625Y:** A molecular structure visualization with the text "最新公開分子".
- 今月の分子:** A section for "260: リボヌクレアーゼ" with a "記事一覧" link.
- PROTEIN DATA BANK:** A logo for the Protein Data Bank.
- 新型コロナウイルス:** A section for "最新構造情報" with a molecular structure visualization.
- EM Navigator:** A logo for the EM Navigator service.
- BMRBj:** A logo for the Biological Magnetic Resonance Data Bank Japan.
- EMPIAR PDBj:** A logo for the EMPIAR PDBj service.

PDBファイルの取得

④ “ダウンロード”タブをクリック

The screenshot shows the PDBj website interface. The 'Downloads' tab is highlighted in the navigation bar. The main content area displays the entry title '7DMU Structure of SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain complexed with high affinity ACE2 mutant 3N39'. On the left sidebar, the 'Downloads' section is expanded, showing options for downloading the data in various formats like PDB, mmCIF, and mmJSON.

⑤ やや下の方にある“pdb7dmu.ent”をクリックしてダウンロード

This screenshot shows the download options for entry 7DMU. A table lists various file formats and their sizes. The 'PDB' row is highlighted, showing the file 'pdb7dmu.ent' (582.65 KB) with a '画面表示' (View) button. An arrow points from the text above to this specific entry. Other formats like mmCIF, mmJSON, and mmBML are also listed with their respective file names and sizes.

ファイル形式	ファイル名 (ファイルサイズ)	操作
PDBx/mmCIF	Zdmu.cif.gz (801.50 KB) Zdmu.cif	画面表示
PDBx/mmJSON	全ての情報: Zdmu.json.gz (568.39 KB) Zdmu.json ヘッダのみ: Zdmu-noatom.json.gz (28.70 KB) Zdmu-noatom.json 付加情報のみ: Zdmu-plus.json.gz (979.00 B) Zdmu-plus.json	画面表示 (Tree) 画面表示 (Header)
PDBML	全ての情報: Zdmu.xml.gz (1.07 MB) Zdmu.xml ヘッダのみ: Zdmu-noatom.xml.gz (59.86 KB) Zdmu-noatom.xml 座標情報のみ: Zdmu-extend.xml.gz (377.77 KB) Zdmu-extend.xml	画面表示 画面表示
PDB	pdb7dmu.ent.gz (582.65 KB) pdb7dmu.ent	画面表示
RDF	Zdmu.rdf.gz (151.20 KB) Zdmu.rdf	Visualize
構造因子	r7dmusf.ent.gz (4.84 MB) r7dmusf.ent	画面表示

pdb7dmu.entをPyMOLで開く

PyMOLの基本操作

PyMOLの画面構成とマウス操作



① 各種操作メニュー

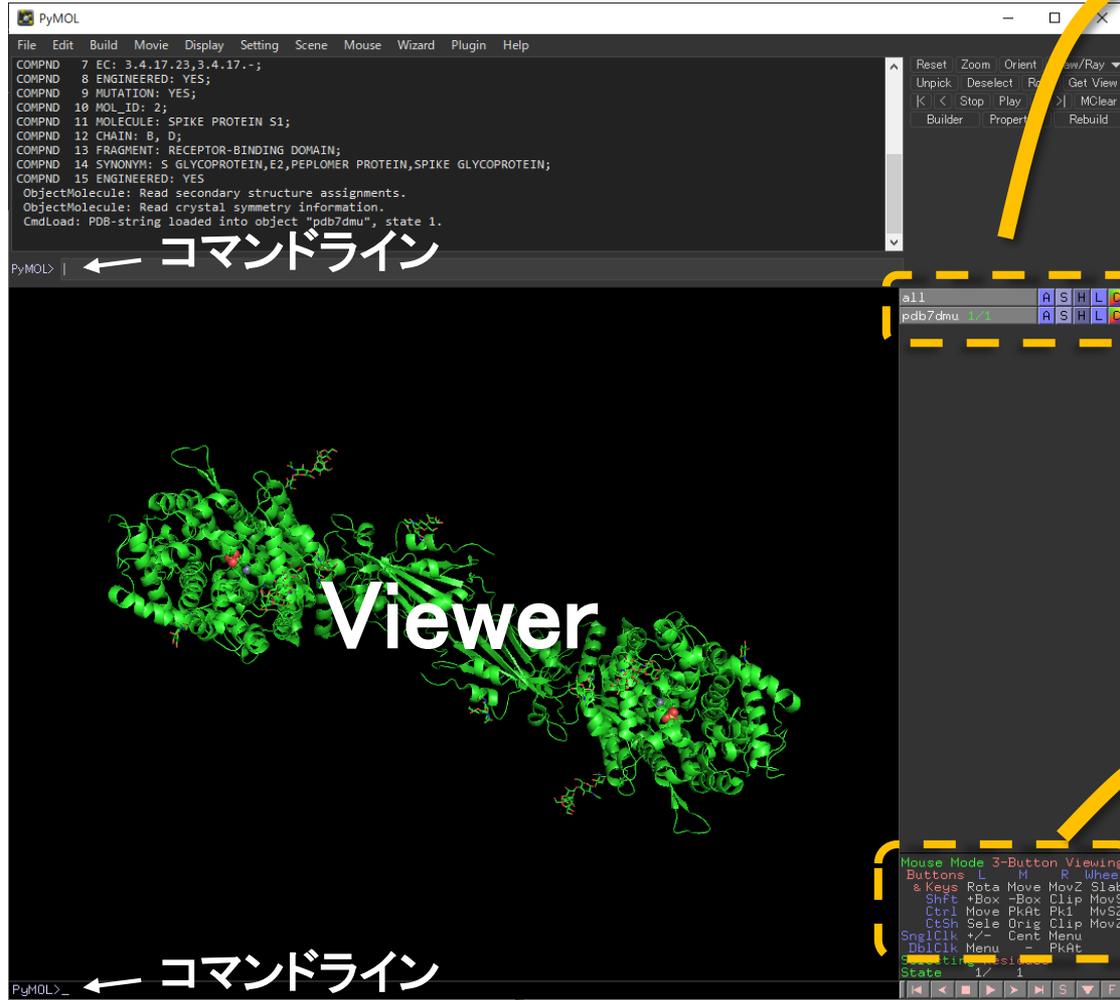
- A**ction: rename, コピーなど
- S**how: 分子を表示(表示方法の変更)
- H**ide: 分子, ラベル等の非表示
- L**abel: ラベルの表示
- C**olor: 色の変更

② マウスの操作法の説明

```

Mouse Mode 3-Button Viewing
Buttons L M R Wheel
& Keys Rota Move MovZ Slab
Shift +Box -Box Clip MovS
Ctrl Move PkAt Pk1 MvSZ
CtSh Sele Orig Clip MovZ
SnglClk +/- Cent Menu
Db1Clk Menu - PkAt
    
```

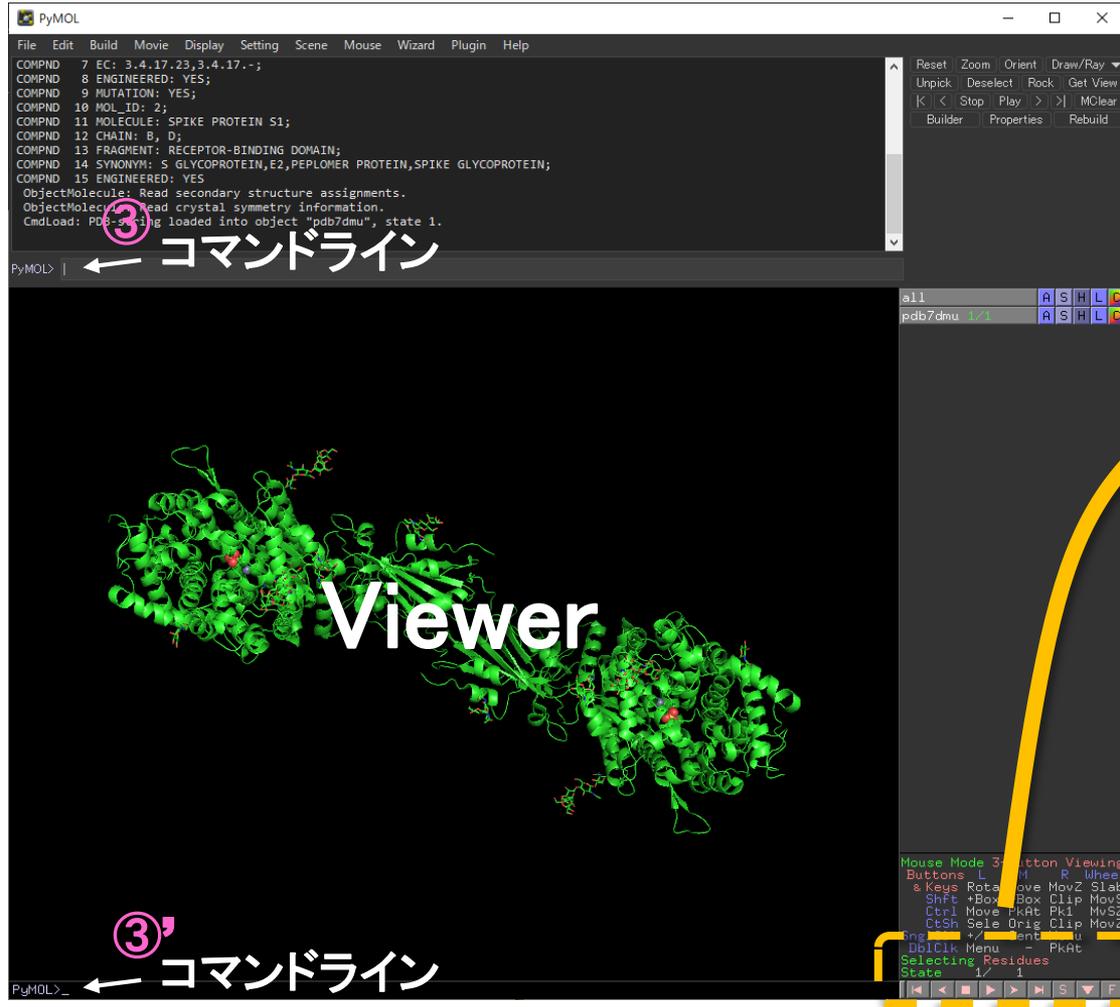
※ このエリアをクリックするとViewingモードからEditingモードに変わるので注意
(構造の観察はViewingモードで行う)



マウスの操作法の詳細

- | | | |
|---------------------|----------------------|----------------|
| 左ボタン+マウス移動: 回転 | 左ボタン(クリック): 選択 | |
| 中ボタン+マウス移動: 移動 | 中ボタン(クリック): 中心位置選択 | スクロールホイール: スラブ |
| 右ボタン+マウス移動(上下): ズーム | 右ボタン(クリック): サブメニュー表示 | |

PyMOLの画面構成(つづき)



③,③' コマンドライン

コマンドの入力は③, ③' のどちらでもOK
(今回はコマンドは使いません)

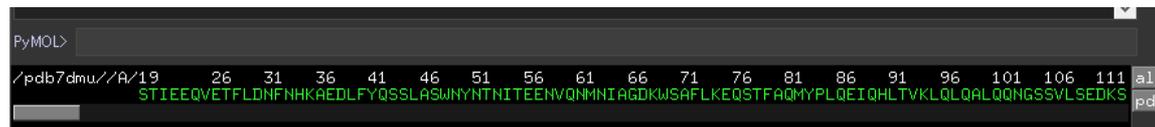


④をクリック:

マウス(左クリック)で選択できる単位を変更

Residues ▶ Chains ▶ Segments ▶ Objects
▶ Molecules ▶ C-alphas ▶ Atoms

⑤をクリック: Viewer上部にアミノ酸配列を表示 ↓



アミノ/酸残基等の選択

PyMOL

```
File Edit Build Movie Display Setting Scene Mouse Wizard Plugin Help
COMPND 13 FRAGMENT: RECEPTOR-BINDING DOMAIN;
COMPND 14 SYNONYM: S GLYCOPROTEIN,E2,PEPLOMER PROTEIN,SPIKE GLYCOPROTEIN;
COMPND 15 ENGINEERED: YES
ObjectMolecule: Read secondary structure assignments.
ObjectMolecule: Read crystal symmetry information.
cmd.loadpdb string loaded into object /pdb7dmu, state 1.
You clicked /pdb7dmu//B/ALA 344/CA
Selector: selection "sele" defined with 5 atoms.
You clicked /pdb7dmu//B/THR 345/CA
Selector: selection "sele" defined with 12 atoms.
You clicked /pdb7dmu//B/ARG 346/CA
Selector: selection "sele" defined with 23 atoms.
```

PyMOL>

/pdb7dmu 341 346 351 356 361 366 371 376 381 386 391 396 401 406 all A S H L C
ITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCAVDYSLVLYNSASFSTFKCYGVSPSTKLNLDLCTFTNVAADSFVIRGDEV

選択されたアミノ酸残基

左クリック

Mouse Mode 3-But
Buttons L M
& Keys Rota Mov
ShFt +Box -Bo
Ctrl Move PkA
CtSh Sele Ori
SnglClk +/- Cen
DBlClk Menu -
Selecting Residu
State 1/ 1

- 原子がある場所を左クリックすると選択できる(上の配列のところをクリックしてもOK)
- 再度クリックすると選択を解除
- 何もないスペースをクリックするとすべての選択を解除できる

(sele)のメニューから、選択した領域のみの色や表示形式の変更ができる

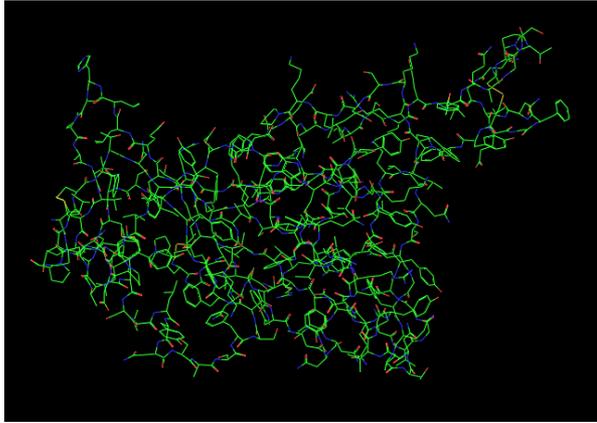


/pdb7dmu 341 346 351 356 361 366 371 376 381 386 391 396 401 406
ITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCAVDYSLVLYNSASFSTFKCYGVSPSTKLNLDLCTFTNVAADSFVIRGDEV

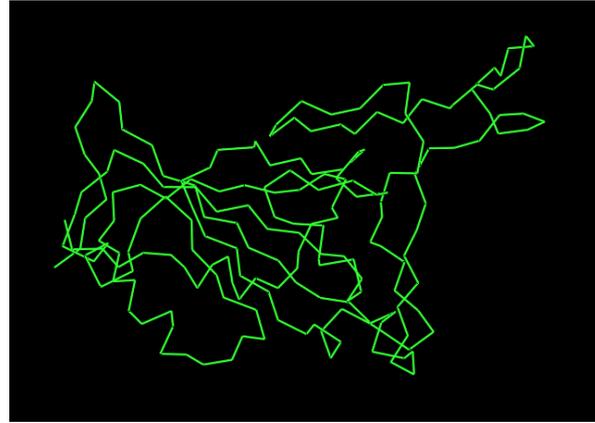
表示形式(主なもの)

デフォルトの色は, CHNOS

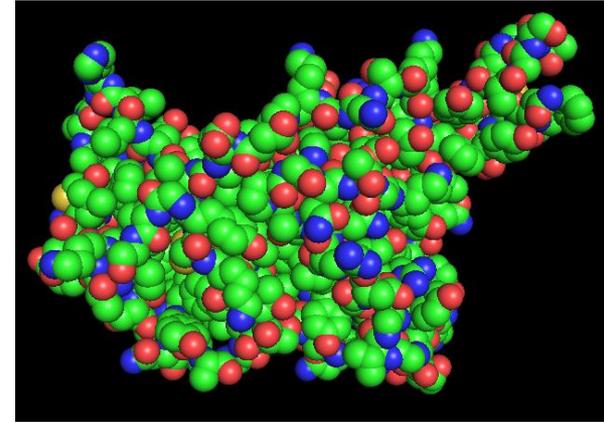
“lines”



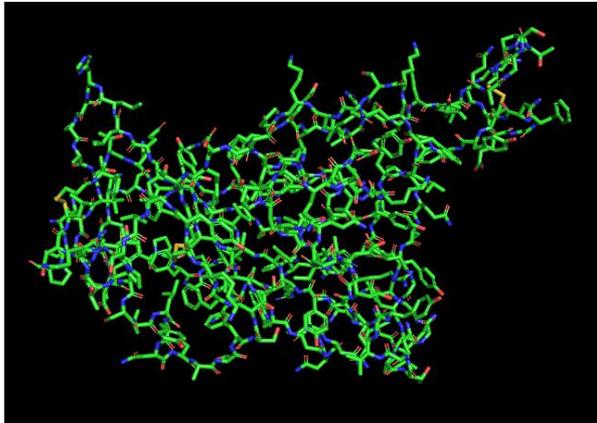
“ribbon”



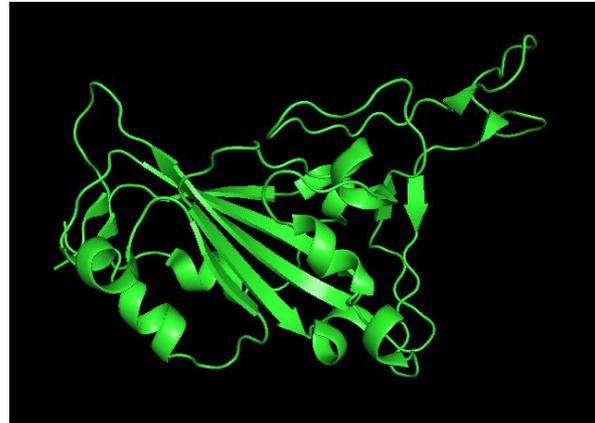
“spheres”



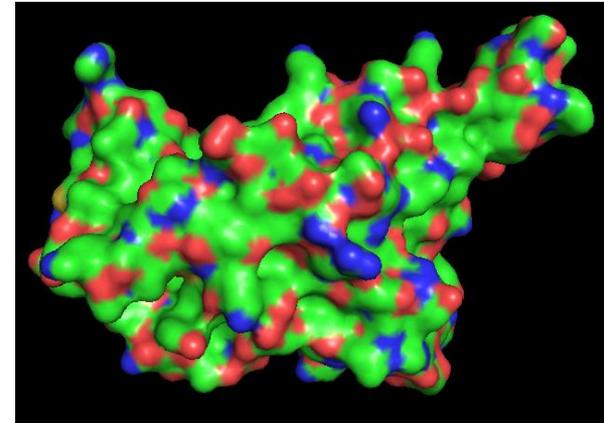
“sticks”



“cartoon”



“surface”



演習

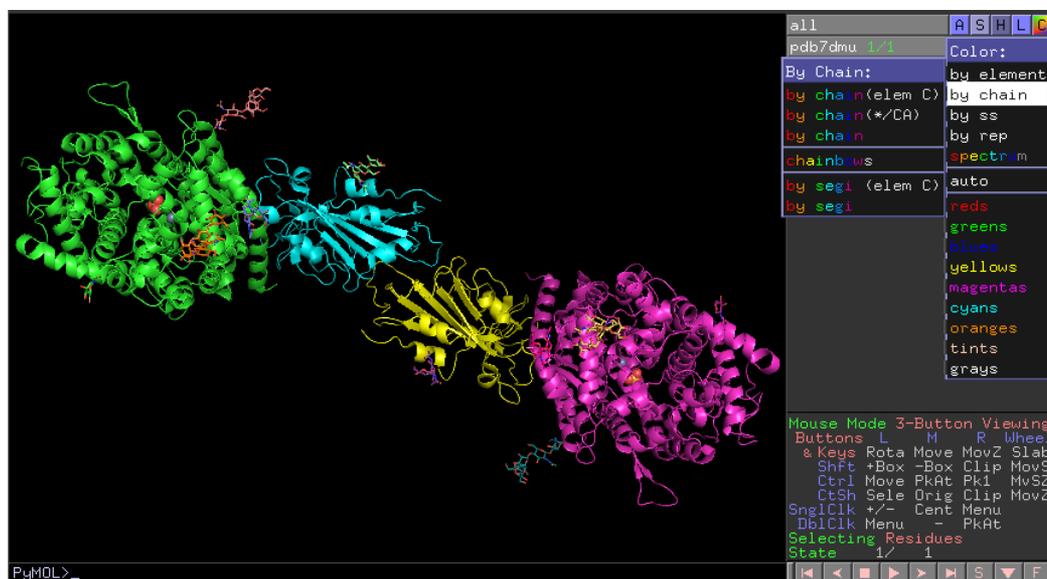
ACE2(3N39)-RBD複合体 (PDB ID: 7dmu) と
ACE2(野生型)-RBD複合体 (PDB ID: 6m0j) の
構造を比較してみる

① Chain IDごとに色を変更

7dmuには複数のポリペプチド鎖(chain)が含まれているため、chainごとに色を変えるとchain構成が分かりやすくなる

【操作】

右メニュー欄: pdb7dmu > Color > by chain > by chain(elem C)をクリック



- Chain IDごとに緑, シアン, マゼンタ, 黄... に色分け
- elem Cを選ぶと、炭素原子のみ色を変更される(HNOSの色はそのまま)

緑色: ACE2(3N39), 1分子目
シアン: RBD, 1分子目
マゼンタ: ACE2(3N39), 2分子目
黄色: RBD, 2分子目
その他: 糖鎖

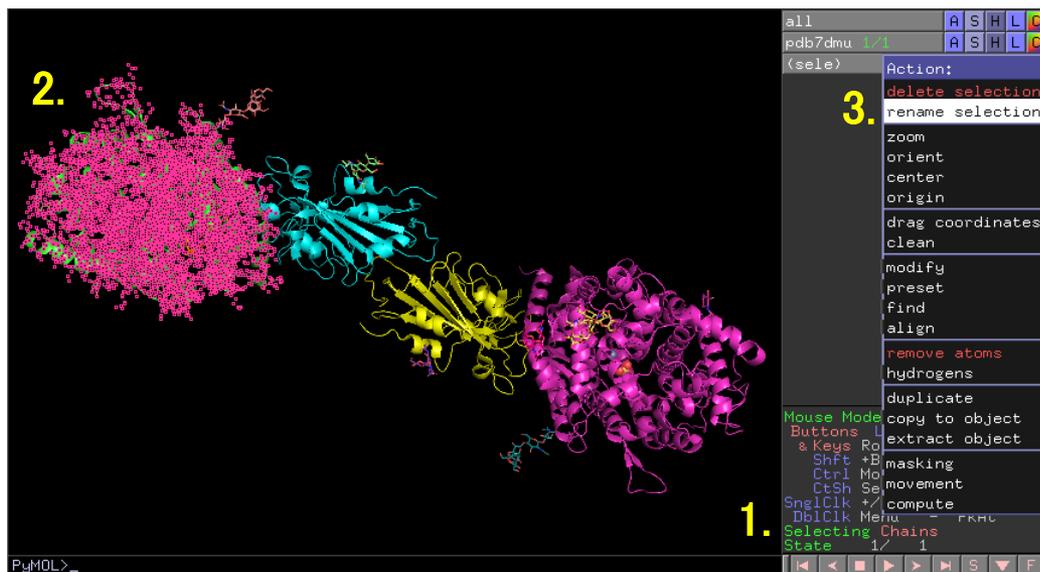
② Chainの選択と選択名の変更

非対象単位にACE2(3N39)-RBD複合体が2つあるので、ACE2(3N39)とRBDを
一分子ずつ選択する

【操作】

1. “Selecting”を“Chains”に変更
2. ACE2(3N39)の1分子目(緑色の分子)をクリック
3. 右メニュー欄: (sele) > Action > rename selection > 選択名を“ACE2-3N39”に変更※

※ 選択名が(sele)のままだと、選択範囲がどんどん更新されてしまうので注意



Renaming sele to: ACE2-3N39_

(viewer上部にrenameの入力欄が表示される)

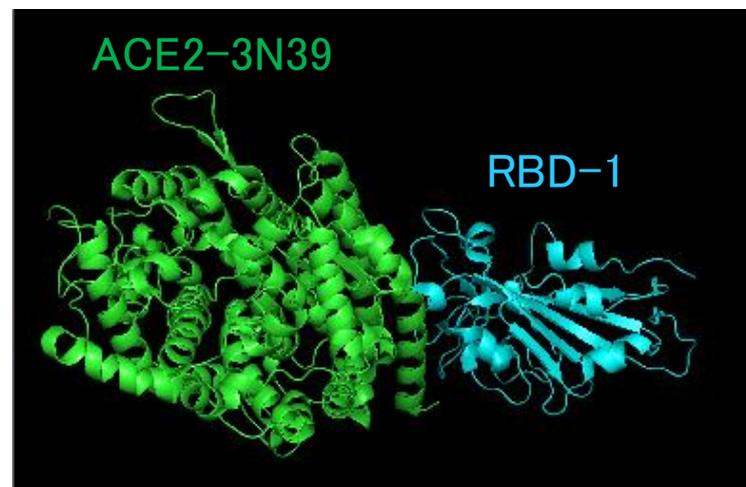
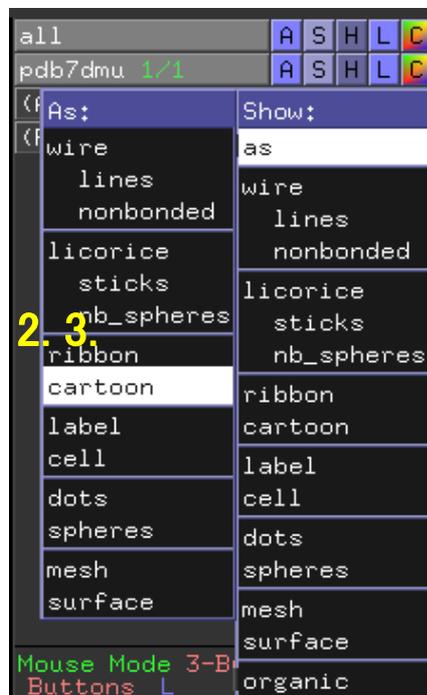
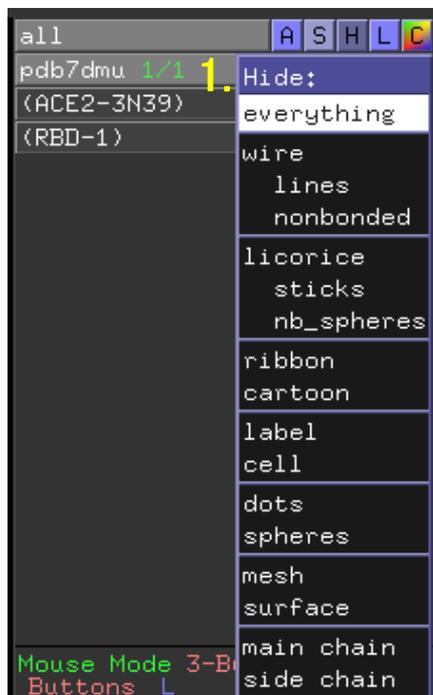
4. 2.~3.と同様に、RBDの1分子目(シアン色の分子)を選択し、選択名を“RBD-1”に変更

③ 表示方法の変更

先ほど選択したACE2(3N39)とRBD(一分子ずつ)のみをcartoonで表示する

【操作】

1. 右メニュー欄: pdb7dmu > Hide > everything (すべての表示を削除)
2. 右メニュー欄: (ACE2-3N39) > Show > as > cartoon (ACE2-3N39をcartoon表示)
3. 右メニュー欄: (RBD-1) > Show > as > cartoon (RBD-1をcartoon表示)



④ ACE2(野生型)-RBD複合体(PDB ID: 6m0j)の表示

ACE2(野生型)-RBD複合体の構造も開き, 同様に表示法を変更する

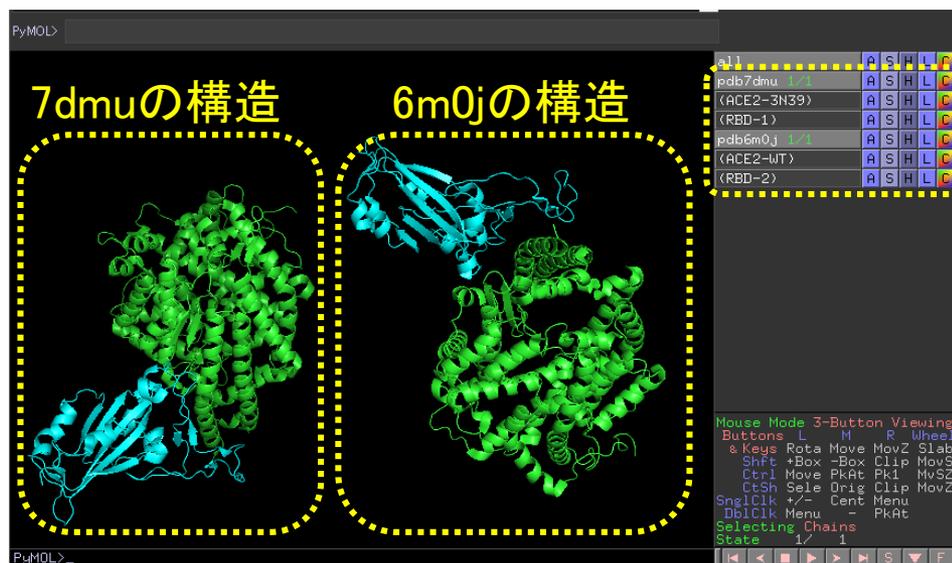
【操作】

1. PDBjのサイトから“pdb6m0j.ent”をダウンロード
2. PyMOLのメニューバー: File > Open... からpdb6m0j.ent※を読み込む

※ 6m0jにはACE2(野生型)とRBDが一分子ずつのみ含まれている

3. あとは7dmuの時と同様に, 以下のように変更

- Chainごとに色を変更
- ACE2(緑色の分子)を選択し, 選択名を“ACE2-WT”に変更
- RBD(シアン色の分子)を選択し, 選択名を“RBD-2”に変更
- それぞれcartoonで表示



一つのViewer上に2種の複合体構造が図のように表示され, 右側のメニュー欄に各項目が正しく作られていればOK

⑤ 分子ごとに色を変更

色が重複していると何がどの分子かわかりづらいので、色を変更する

【操作】

1. 右メニュー欄: (ACE2-3N39) > Color > by element > “Cがオレンジ色のものを選択”
2. 右メニュー欄: (RBD-1) > Color > by element > “Cが緑色のものを選択”
3. 右メニュー欄: (ACE2-WT) > Color > by element > “Cがグレーのものを選択”
4. 右メニュー欄: (RBD-2) > Color > by element > “Cが黄色のものを選択”

（お好きな色に変えていただいても構わないのですが、今回は講習会なので皆さんで色を統一しておいた方が混乱しないかと思います）

The image shows a PyMOL interface with four protein structures: ACE2-3N39 (orange), RBD-1 (green), RBD-2 (yellow), and ACE2-WT (gray). The right-hand side displays the 'Color' menu for the selected chain, with pink arrows pointing to the following options: 'by element' (2), 'by chain' (4), 'by ss' (3), and 'by rep' (1). The 'by element' option is currently selected, and the 'greens' option is highlighted. The bottom of the interface shows the 'Selecting Chains' section with 'State 1/ 1'.

⑥ 分子の重ね合わせ

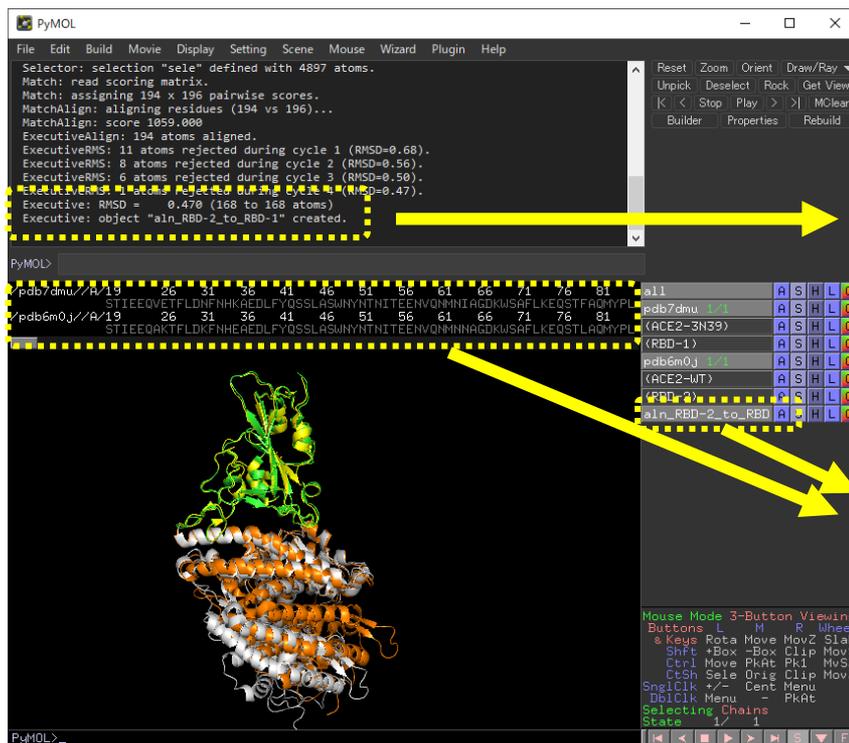
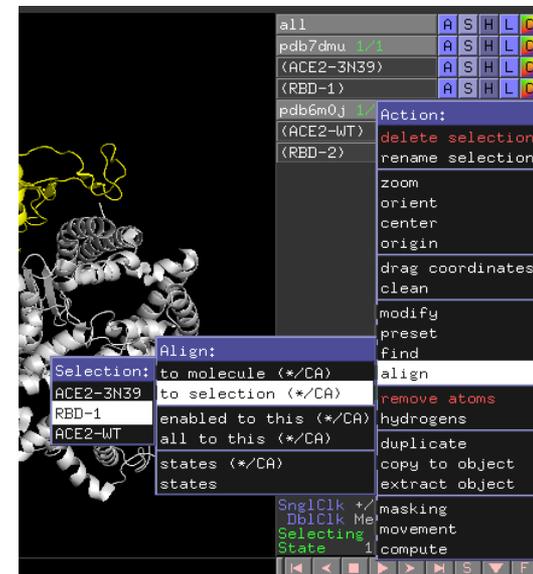
7dmuと6m0jの構造をRBDを基準にして重ね合わせる

【操作】

右メニュー欄:

(RBD-2) > Action > align > to selection (*/*CA) > RBD-1

選択した分子同士のアミノ酸配列のアラインメントを行い、対応するCα炭素の位置ができるだけ合うように重ね合わされる



対応するCα間のRMSD値も算出してくれる

```
ExecutiveRMS: 1 atoms rejected during cycle 4 (RMSD=0.47)
Executive: RMSD = 0.470 (168 to 168 atoms)
Executive: object "aln_RBD-2_to_RBD-1" created.
```

- Viewer上部に配列を表示すると、配列アラインメントになっている
- “aln_RBD-2_to_RBD”を解除すると、通常の配列表示に戻る

⑦ 構造の比較(観察)

ここまでついて来れなかった方は, 7dmu_6m0j.pseファイルをPyMOLで開いてください

- 重要なアミノ酸残基をstickで表示

変異導入部位①

ACE2-3N39	: V25, F79	RBD-1	: F486
ACE2-WT	: A25, L79	RBD-2	

変異導入部位②

ACE2-3N39	: N31, K35	RBD-1	: Q493
ACE2-WT	: K31, E35	RBD-2	

活性中心の開口部

ACE2-3N39	: S128, V343
ACE2-WT	

- 2点間の距離を測定

【操作】

- メニューバー: Wizard > Measurement > “測定したい2点をクリック”
- Measurementモードを終了したいときは, 右下の“Done”をクリック