

生物情報工学第11回

中野秀雄

(bioinfo@molbiotech-nagoya.org)

来たら直ぐに出席のメールを上記アドレスに出すこと。名前と出席番号を忘れずに！

本日の目的

蛋白質の立体構造決定法概説

立体構造表示ソフトPyMolの使い方
になれる

その他の表示ソフト

蛋白質の立体構造決定法

X線結晶構造解析

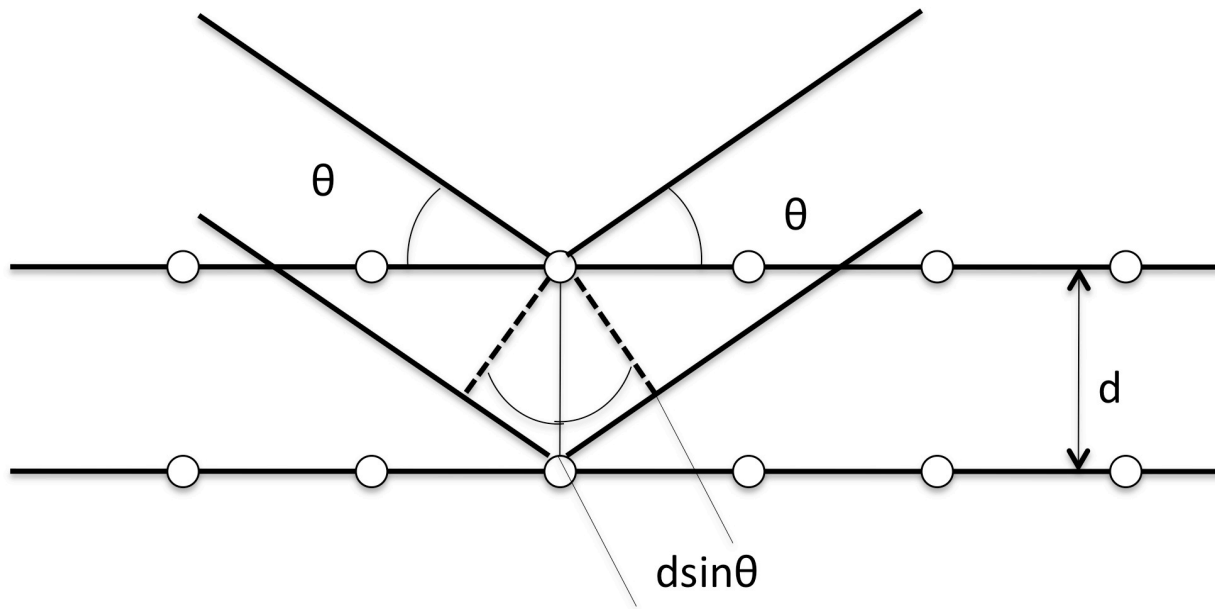
X線結晶構造解析

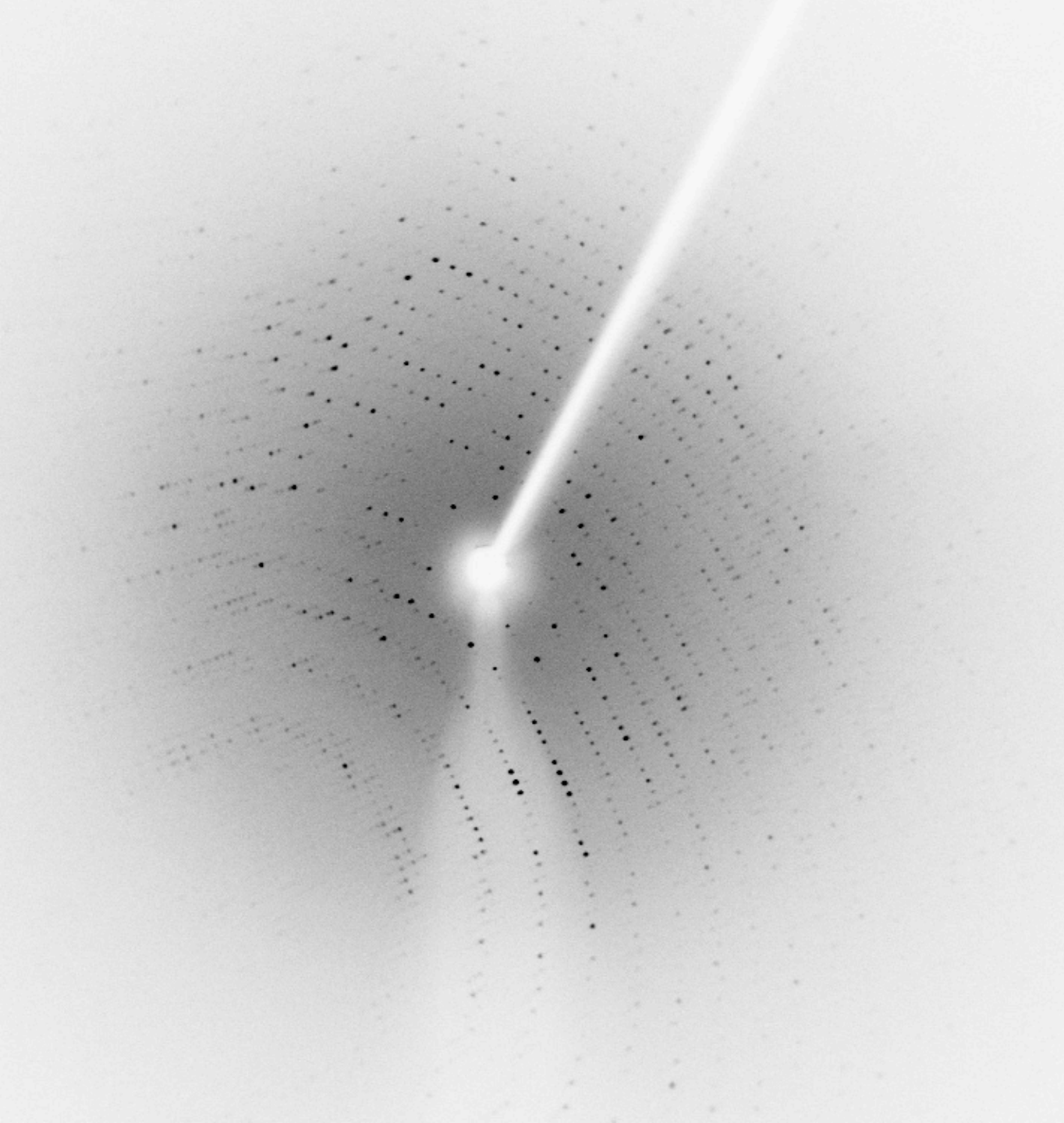
- 世界最初のX線回折による蛋白質の構造解析、1958年 ミオグロビン
- 現在の研究方法
 - 1) 組換えDNA技術を用いて大量発現系を構築し、その後カラムクロマトグラフィーなどの操作によりほぼ単一の蛋白質になるまで精製.
 - 2) 蛋白質の結晶化条件探索
 - 蛋白質濃度, 緩衝液の種類とpH, イオン強度, 温度, 塩類, 有機溶媒, ポリエチレン・グリコール等の沈殿剤の添加, 濃縮



Streptomyces antibioticus phospholipaseDの結晶

Braggの回折条件 $2d\sin\theta = n\lambda$





- 解析の対象となるのは電子の密度関数
- 数学的にはX線の回折像はこの電子密度関数をフーリエ変換したもの(F)
- 一般にFは複素数であるので、振幅 $|F|$ と位相の二つの情報を持っている。ところが回折像で得られる情報は振幅 $|F|$ だけになってしまい、位相の情報は消えてしまっている。従って電子密度を逆フーリエ変換で得るためには、この“位相問題”を解く必要がある。
- 位相問題を解くために、一般的にはHgなどの重原子を結晶の中に取り込ませ、重原子同型置換法などで決定する。





コンピュータが生物学の研究に必須な理由

- データ量が大きい

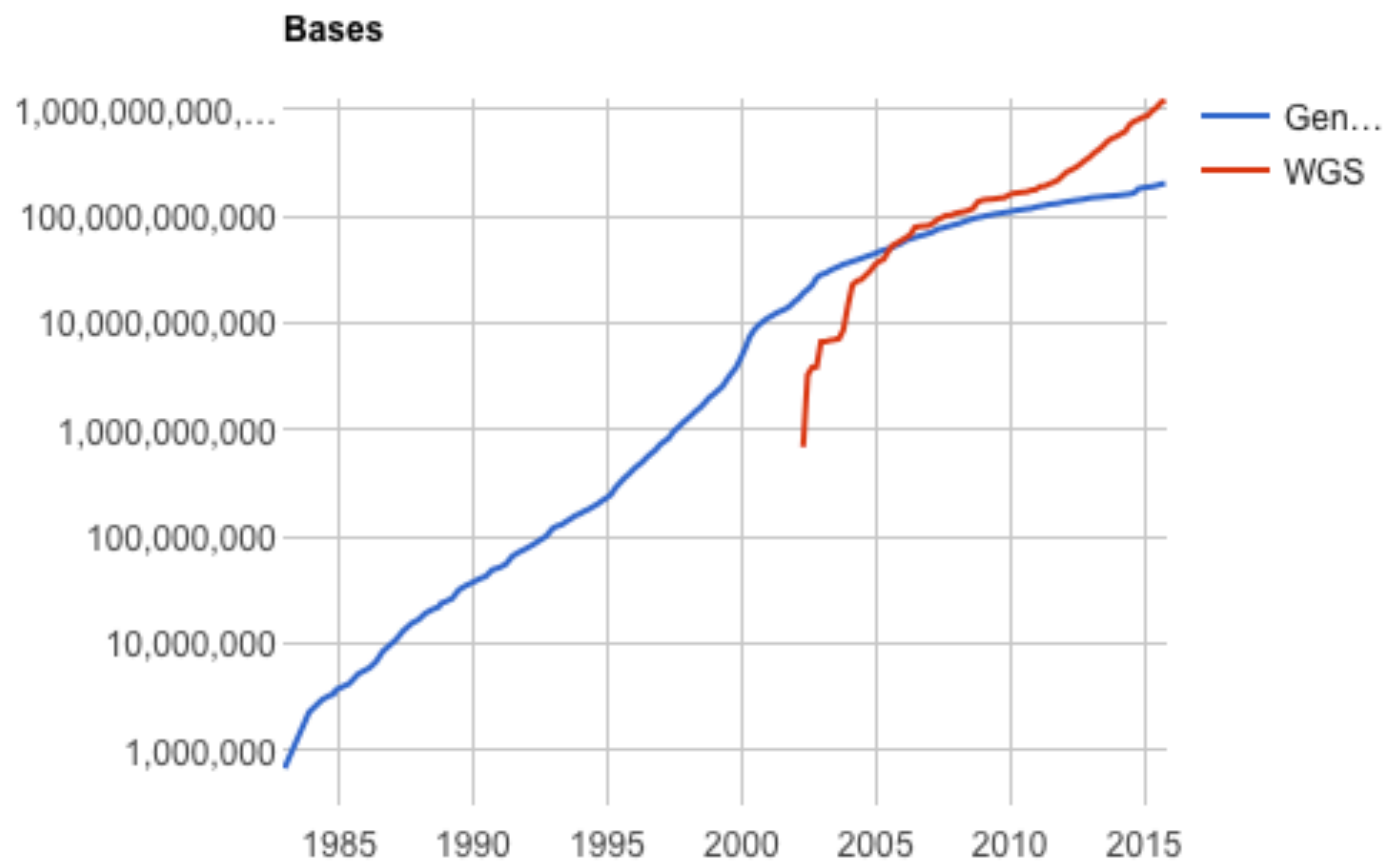
- ゲノムサイズ 大腸菌 4.6M, 酵母 120M、ヒト 3G
小麦 17G

データベースに登録された塩基数

2015年8月現在 199,823,644,287 bp (GeneBank)

Protein Data Bank (http://www.pdbj.org/index_j.html) (114,080の立体構造)

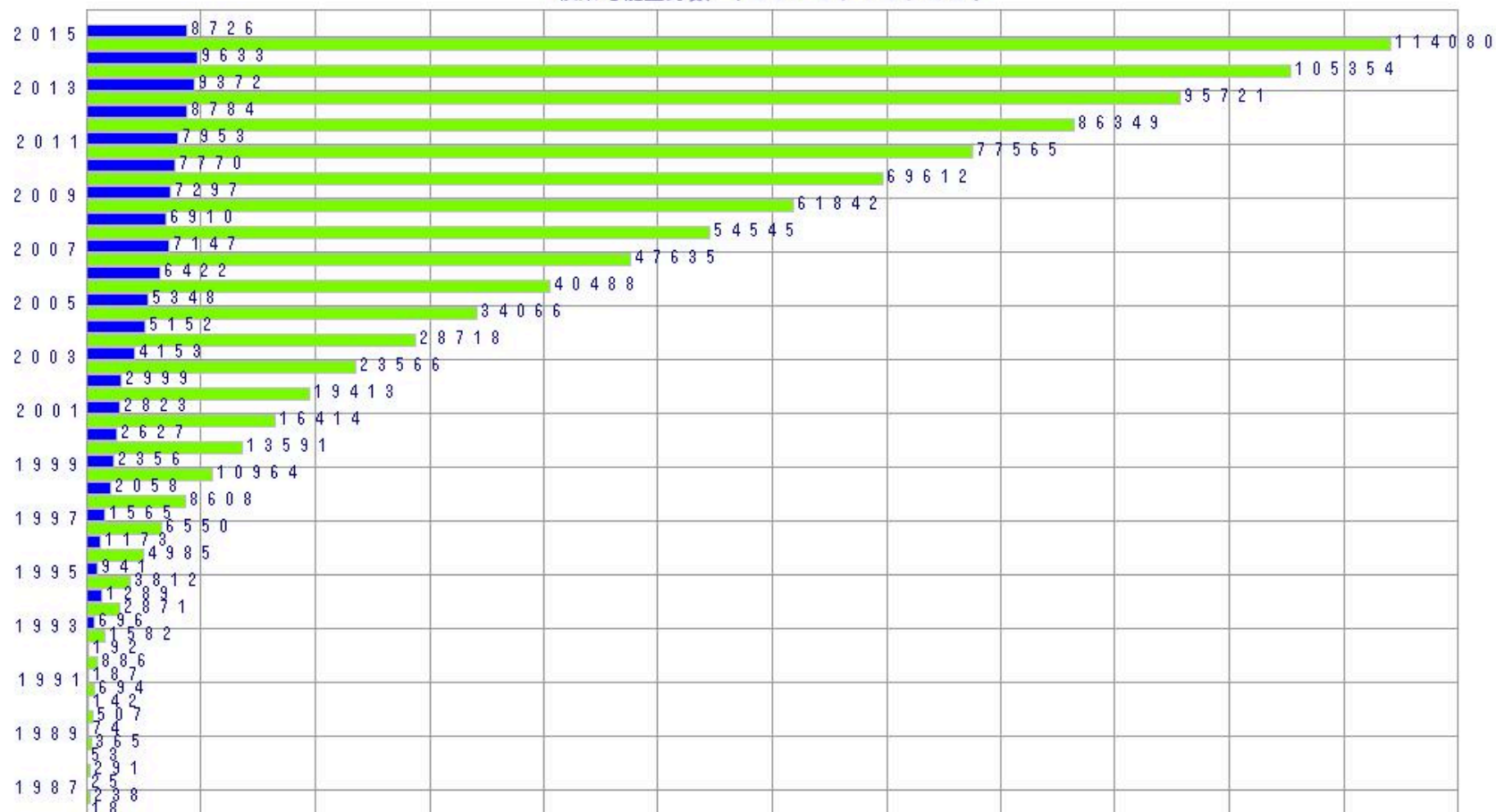
Growth of GenBank and WGS



統計情報

このページの他言語版もあります: [English](#)

検索可能登録数 (2015/12/02)



次世代DNAシーケンサーの出現によりこれからますます生物学にコンピューターは必要となる

- 従来のDNAシーケンサー
 - 1-100kb/run
- 次世代シーケンサー
 - 200Mb-200Gb/run
- すなわち10の6乗サイズのデータを取り扱う必要有り。

立体構造を図示するフリーのソフト

RasMol(<http://www.openrasmol.org/>)

Windows, Mac, Linux フリーソフト

PDV Viewer (<http://spdbv.vital-it.ch/>)

Windows, Mac, Linux フリーソフト

Pymol(<http://www.pymol.org/>)

Windows, Mac, Linux, 教員は登録の上フリー

YASARA view (<http://www.yasara.org/>)

Windows, Mac, Linux フリーソフト

タンパク質の立体構造を見てみよう

- PyMolは既にインストールされているので、PDBjより3B7E(インフルエンザウイルスのノイラミニダーゼとリレンザとの複合体)をダウンロードし、PyMolで開く
- 作成した図は画像ファイルとして保存し、ワードファイルに貼り付ける。



トップページ

データ登録 >>

- ADIT: PDB Deposition
- ADIT-NMR

検索 >>

- Search PDB (Mine/xPSSS)
- PDB/RDF, chem_comp/RDF
- Latest Release Search
- Sequence-Navigator
- Structure-Navigator
- SeSAW
- Ligand Binding Sites (GIRAF)
- EM Navigator
- Search NMR Data (BMRB)
- Status Search

サービス&ソフトウェア >>

- JV: Graphic Viewer
- 万見 (Yorodumi)
- Protein Globe
- ASH
- MAFFTash
- SEALA

日本蛋白質構造データバンク(PDBj: Protein Data Bank Japan)は、JST-NBDCと大阪大学の支援を受け、米国RCSB、と協力して、生体高分子の立体構造データベースを国際的に統一化されたPDBアーカイブとして運営するとともに、様々なサービスを提供しています。

データ登録

データ登録のご案内 >>



検索



Mine日本語ページについて

PDB ID or Keyword

詳細条件検索 >>

NMRデータ検索

Accession number

Deposition code



トップページ

データ登録 >>

- ADIT: PDB Deposition
- ADIT-NMR

検索 >>

- Search PDB (Mine/xPSSS)
- PDB/RDF, chem_comp/RDF
- Latest Release Search
- Sequence-Navigator
- Structure-Navigator
- SeSAW
- Ligand Binding Sites (GIRAF)
- EM Navigator
- Search NMR Data (BMRB)
- Status Search

サービス&ソフトウェア >>

- JV: Graphic Viewer
- 万見 (Yorodumi)
- Protein Globe
- ASH
- MAFFTash
- SEALA

Structure Prediction >>

- CRNPRED
- Spanner
- SFAS

二次データベース >>

- eF-site/eF-seek/eF-surf
- eProtS
- ProMode / ProMode Elastic / ProMode Oligomer
- Molecule of the Month

ダウンロード >>

- PDB Archive/Snapshot Archive

日本蛋白質構造データバンク(PDBj: Protein Data Bank Japan)は、JST-NBDCと大阪大学の支援を受け、米国RCSB、BMRB、および欧州PDBと協力して、生体高分子の立体構造データベースを国際的に統一化されたPDBアーカイブとして運営するとともに、様々な解析ツールを提供しております。

Mine 検索結果ページ

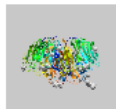
日本語ページについて
PDBj Mineについて
更新情報

(PDB-IDをクリックすると、詳細情報をご覧いただけます)

1 - 2 / 2

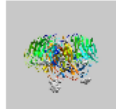
クエリ: PDB ID or Keyword 表示順:

3b7e



分子名称 : Neuraminidase (E.C.3.2.1.18)
 タイトル : Neuraminidase of A/Brevig Mission/1/1918 H1N1 strain in complex with zanamivir
 著者 : Xu, X., Zhu, X., Wilson, I.A.
 実験手法 : X-RAY DIFFRACTION
 登録日 : 2007-10-30
 公開日 : 2008-10-07

3beq



分子名称 : Neuraminidase (E.C.3.2.1.18)
 タイトル : Neuraminidase of A/Brevig Mission/1/1918 H1N1 strain
 著者 : Xu, X., Zhu, X., Wilson, I.A.
 実験手法 : X-RAY DIFFRACTION
 登録日 : 2007-11-19
 公開日 : 2008-09-30

クエリ: PDB ID or Keyword 表示順:

```
HEADER      HYDROLASE                      30-OCT-07  3B7E
TITLE       NEURAMINIDASE OF A/BREVI G MISSION/1/1918 H1N1 STRAIN IN COMPLEX WITH
TITLE       2 ZANAMIVIR
COMPND      MOL_ID: 1;
COMPND      2 MOLECULE: NEURAMINIDASE;
COMPND      3 CHAIN: A, B;
COMPND      4 FRAGMENT: SEQUENCE DATABASE RESIDUES 83-467;
COMPND      5 EC: 3.2.1.18;
COMPND      6 ENGINEERED: YES
SOURCE      MOL_ID: 1;
SOURCE      2 ORGANISM_SCIENTIFIC: INFLUENZA A VIRUS;
SOURCE      3 ORGANISM_TAXID: 11320;
SOURCE      4 STRAIN: A/BREVI G MISSION/1/1918;
SOURCE      5 GENE: NEURAMINIDASE;
SOURCE      6 EXPRESSION_SYSTEM: TRICHOPLUSIA NI;
SOURCE      7 EXPRESSION_SYSTEM_TAXID: 7111;
SOURCE      8 EXPRESSION_SYSTEM_STRAIN: HIGH-FIVE BTI-TN-5B1-4;
SOURCE      9 EXPRESSION_SYSTEM_VECTOR_TYPE: BACULOVIRUS;
SOURCE      10 EXPRESSION_SYSTEM_PLASMID: PACGP67
KEYWDS      6-BLADED BETA-PROPELLER, GLYCOSIDASE, HYDROLASE, MEMBRANE,
KEYWDS      2 TRANSMEMBRANE, VIRION
EXPDTA      X-RAY DIFFRACTION
AUTHOR      X.XU, X.ZHU, I. A. WILSON
REVDAT      4 13-JUL-11 3B7E 1 VERSN
REVDAT      3 20-JAN-09 3B7E 1 AUTHOR VERSN
REVDAT      2 04-NOV-08 3B7E 1 JRNL
REVDAT      1 07-OCT-08 3B7E 0
JRNL        AUTH  X.XU, X.ZHU, R. A. DWEK, J. STEVENS, I. A. WILSON
JRNL        TITL  STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF THE 1918 INFLUENZA VIRUS H1N1
JRNL        TITL 2 NEURAMINIDASE
```

名前を付けて保存

保存する場所①: マイ ドキュメント

最近使ったファイル

デスクトップ

マイ ドキュメント

マイ コンピュータ

マイ ネットワーク

My eBooks
My Music
My Pictures
My Videos
受信したファイル
2ze4_seq.txt

ファイル名(N): pdb3b7e.ent

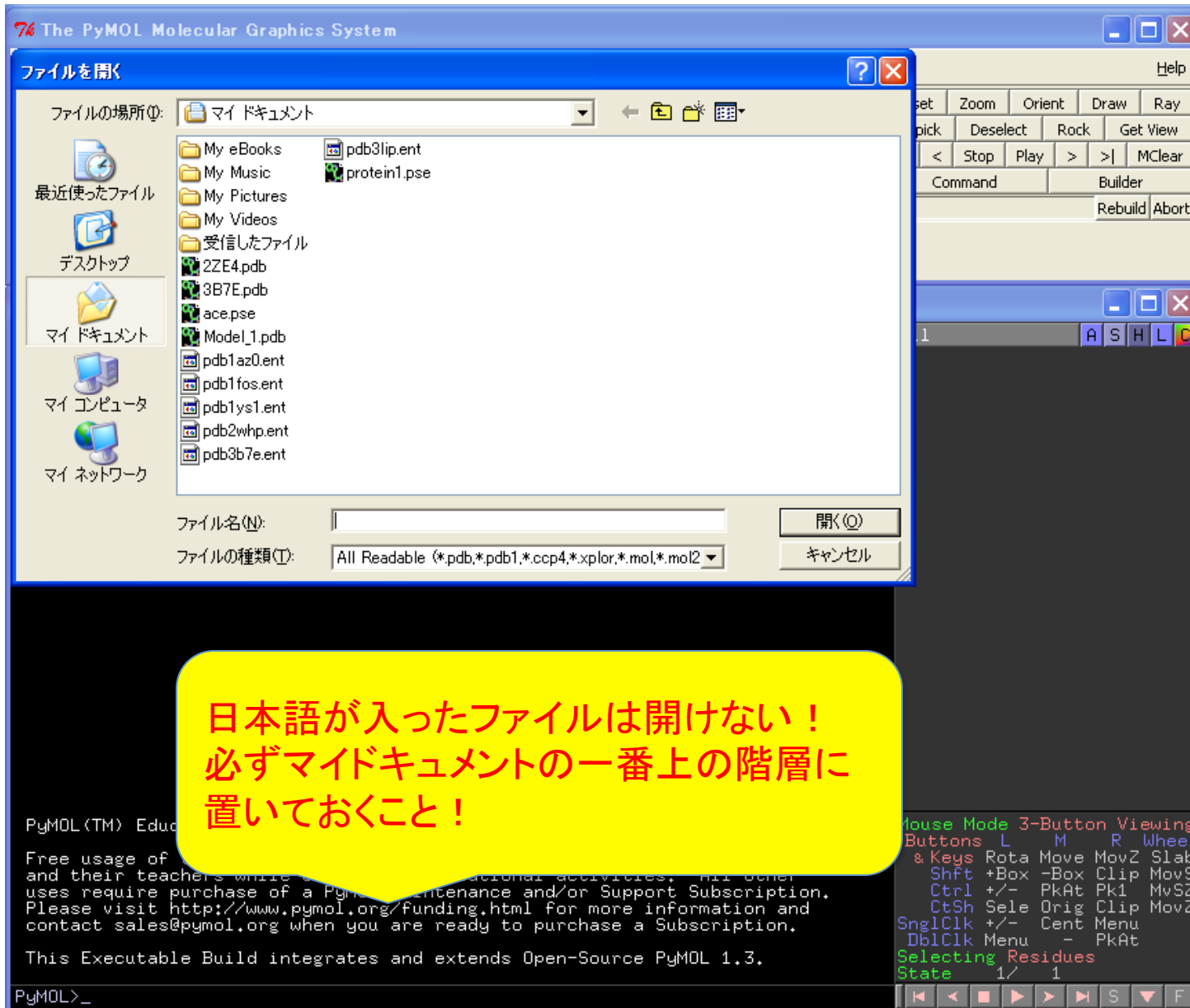
ファイルの種類(I): テキスト ドキュメント

保存(S)

キャンセル

```

SOURCE 6 EXPRESSION_SYSTEM: TRICHOPLUSIA NI;
SOURCE 7 EXPRESSION_SYSTEM_TAXID: 7111;
SOURCE 8 EXPRESSION_SYSTEM_STRAIN: HIGH-FIVE BTI-TN-5B1-4;
SOURCE 9 EXPRESSION_SYSTEM_VECTOR_TYPE: BACULOVIRUS;
SOURCE 10 EXPRESSION_SYSTEM_PLASMID: PACGP67
KEYWDS 6-BLADED BETA-PROPELLER, GLYCOSIDASE, HYDROLASE, MEMBRANE,
KEYWDS 2 TRANSMEMBRANE, VIRION
EXPDTA X-RAY DIFFRACTION
AUTHOR X. XU, X. ZHU, I. A. WILSON
REVDAT 4 13-JUL-11 3B7E 1 VERSN
REVDAT 3 20-JAN-09 3B7E 1 AUTHOR VERSN
REVDAT 2 04-NOV-08 3B7E 1 JRNL
REVDAT 1 07-OCT-08 3B7E 0
JRNL AUTH X. XU, X. ZHU, R. A. DWEK, J. STEVENS, I. A. WILSON
JRNL TITL STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF THE 1918 INFLUENZA VIRUS H1N1
JRNL TITL 2 NEURAMINIDASE
    
```



The PyMOL Molecular Graphics System

File Edit Build Movie Display Setting Scene Mouse Wizard Plugin Help

```

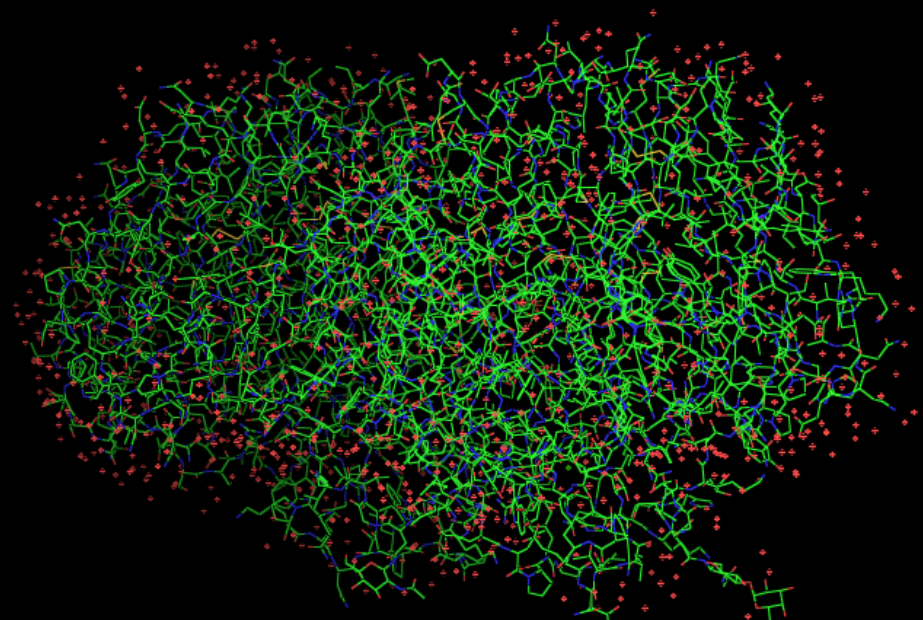
COMPND  MOL_ID: 1;
COMPND  2 MOLECULE: NEURAMINIDASE;
COMPND  3 CHAIN: A, B;
COMPND  4 FRAGMENT: SEQUENCE DATABASE RESIDUES 83-467;
COMPND  5 EC: 3.2.1.18;
COMPND  6 ENGINEERED: YES
ObjectMolecule: Read secondary structure assignments.
ObjectMolecule: Read crystal symmetry information.
Symmetry: Found 8 symmetry operators.
CmdLoad: "Z:/My Documents/pdb3b7e.ent" loaded as "pdb3b7e".
PyMOL>

```

Reset	Zoom	Orient	Draw	Ray
Unpick	Deselect	Rock	Get View	
<	<	Stop	Play	>
Command		Builder		
		Rebuild Abort		

PyMOL Viewer

or Educational Use Only



all	A	S	H	L	C
pdb3b7e	A	S	H	L	C

```

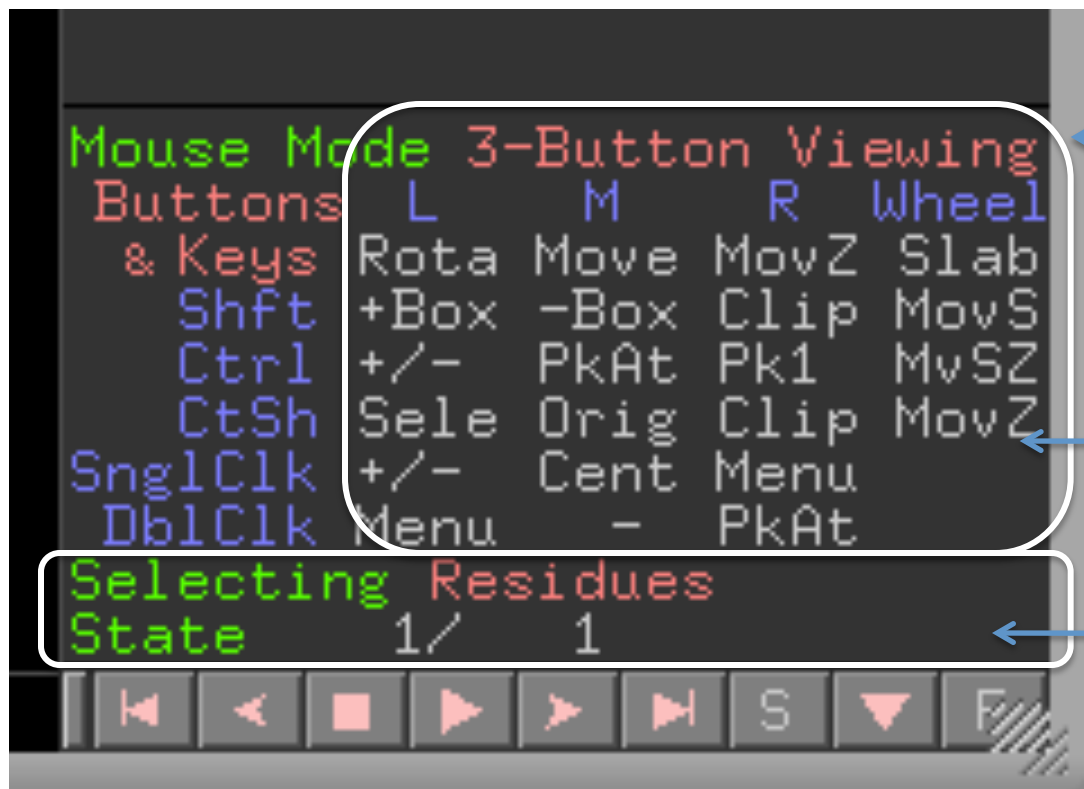
Mouse Mode 3-Button Viewing
Buttons L M R Wheel
& Keys Rota Move MovZ Slab
Shft +Box -Box Clip MovS
Ctrl +/- PkAt Pk1 MvSZ
CtSh Sele Orig Clip MovZ
SnglClk +/- Cent Menu
Db1Clk Menu - PkAt
Selecting Residues
State 1/ 1

```

PyMOL>_

11:34
11:26

マウスによる選択方法の指定



マウスモードの指定
(2ボタンと3ボタン)

マウスボタン説明

指定するレベル
(原子、残基、分子など)

↑
アミノ酸配列の表示

Mozilla Firefox

ファイル(E) 編集(E) 表示(V) 履歴(S) ブックマーク(B) ツール(T) ヘルプ(H)

http://www.pdbj.org/pdb_nc/pdb3b7e.ent

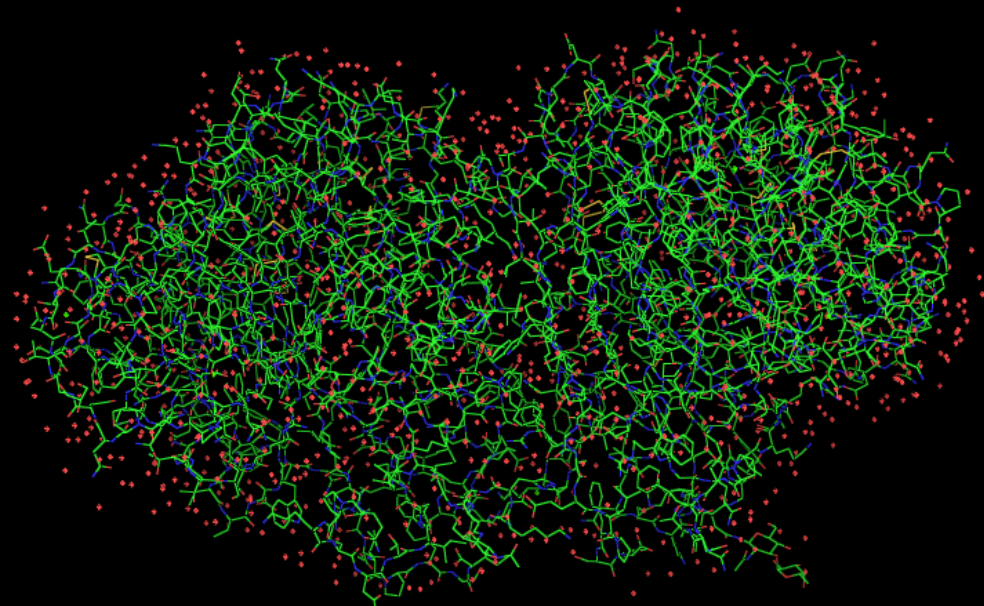
よく見るページ Firefox を使ってみよう 最新ニュース 情報メディア教育センター

http://www.pdbj...b_nc/pdb3b7e.ent

HEADER HYDROLASE 30-OCT-07 3B7E
 TITLE NEURAMINIDASE OF A/BREVIQ MISSION/1/1918 H1N1 STRAIN IN COMPLEX WITH
 TITLE 2 ZANAMIVIR

PyMOL Viewer

or Educational Use Only



all	Show:
pdb3b7e	as
	lines
	sticks
	ribbon
	cartoon
	label
	cell
	nonbonded
	dots
	spheres
	nb_spheres
	mesh
	surface
	organic
	main chain
	side chain
	disulfides

Mouse Mode 3-Button Viewing
 Buttons L M R Wheel
 & Keys Rota Move MovZ Slab
 Shft +Box -Box Clip MovS
 Ctrl +/- PkAt Pk1 MvSZ
 CtSh Sele Orig Clip MovZ
 SnglClk +/- Cent Menu
 Db1Clk Menu - PkAt
 Selecting Residues
 State 1/ 1

REMARK 3
 REMARK 3 REFINEMENT TARGET : MAXIMUM LIKELIHOOD
 REMARK 3

完了

JP 一般 CAPS KANA

スタート 名古屋大学... PyMOLを使っ... Mozilla Firef... ダウンロードマ... マイドキュメント Microsoft Po... PyMOL Viewer The PyMOL ... 11:40

The PyMOL Molecular Graphics System

File Edit Build Movie Display Setting Scene Mouse Wizard Plugin Help

```

COMPND  MOL_ID: 1;
COMPND  2 MOLECULE: NEURAMINIDASE;
COMPND  3 CHAIN: A, B;
COMPND  4 FRAGMENT: SEQUENCE DATABASE RESIDUES 83-467;
COMPND  5 EC: 3.2.1.18;
COMPND  6 ENGINEERED: YES
ObjectMolecule: Read secondary structure assignments.
ObjectMolecule: Read crystal symmetry information.
Symmetry: Found 8 symmetry operators.
CmdLoad: "Z:/My Documents/pdb3b7e.ent" loaded as "pdb3b7e".
PyMOL>

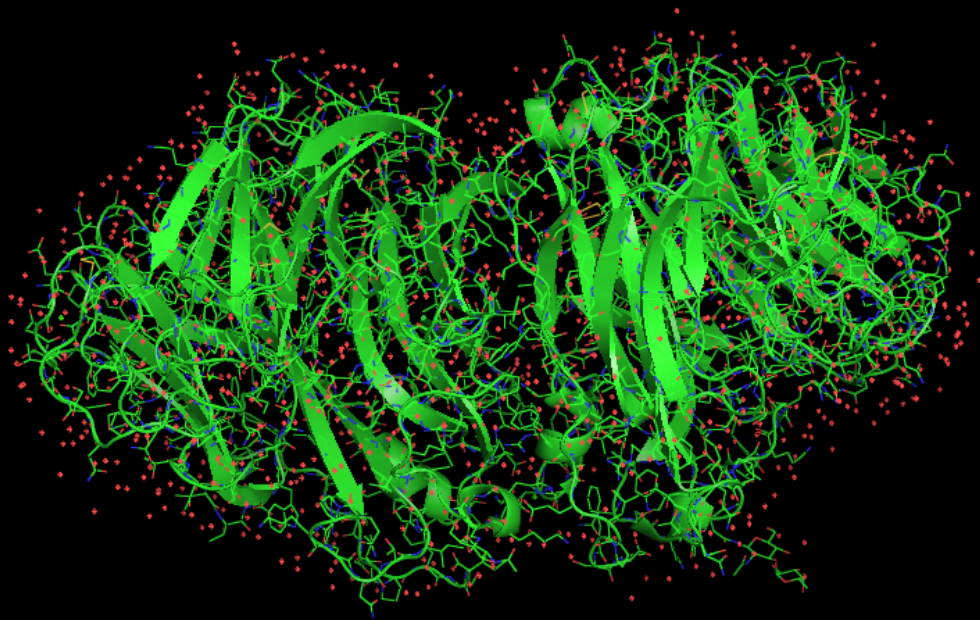
```

Reset Zoom Orient Draw Ray
 Unpick Deselect Rock Get View
 < < Stop Play > >| MClear
 Command Builder
 Rebuild Abort

☆ pdbj

PyMOL Viewer

or Educational Use Only



all A S H L C
 pdb3b7e Hide:
 everything
 lines
 sticks
 ribbon
 cartoon
 label
 cell
 nonbonded
 dots
 spheres
 nb_spheres
 mesh
 surface
 main chain
 side chain
 waters
 hydrogens
 unselected

Mouse Mode 3-Button Viewing
 Buttons L M R Wheel
 & Keys Rota Move MovZ Slab
 Shft +Box -Box Clip MovS
 Ctrl +/- PkAt Pk1 MvS2
 CtSh Sele Orig Clip MovZ
 SnglClk +/- Cent Menu
 Db1Clk Menu - PKAt
 Selecting Residues
 State 1/ 1

PyMOL>_

REMARK 3
 REMARK 3 REFINEMENT TARGET : MAXIMUM LIKELIHOOD
 REMARK 3

The PyMOL Molecular Graphics System

File Edit Build Movie Display Setting Scene Mouse Wizard Plugin Help

COMPND MOL_ID: 1;
 COMPND 2 MOLECULE: NEURAMINIDASE;
 COMPND 3 CHAIN: A, B;
 COMPND 4 FRAGMENT: SEQUENCE DATABASE RESIDUES 83-467;
 COMPND 5 EC: 3.2.1.18;
 COMPND 6 ENGINEERED: YES
 ObjectMolecule: Read secondary structure assignments.
 ObjectMolecule: Read crystal symmetry information.
 Symmetry: Found 8 symmetry operators.
 cmdLoad: "z:/My Documents/pdb3b7e.ent" loaded as "pdb3b7e".

PyMOL>

☆ pdbj

PyMOL Viewer
or Educational Use Only

all A S H L C

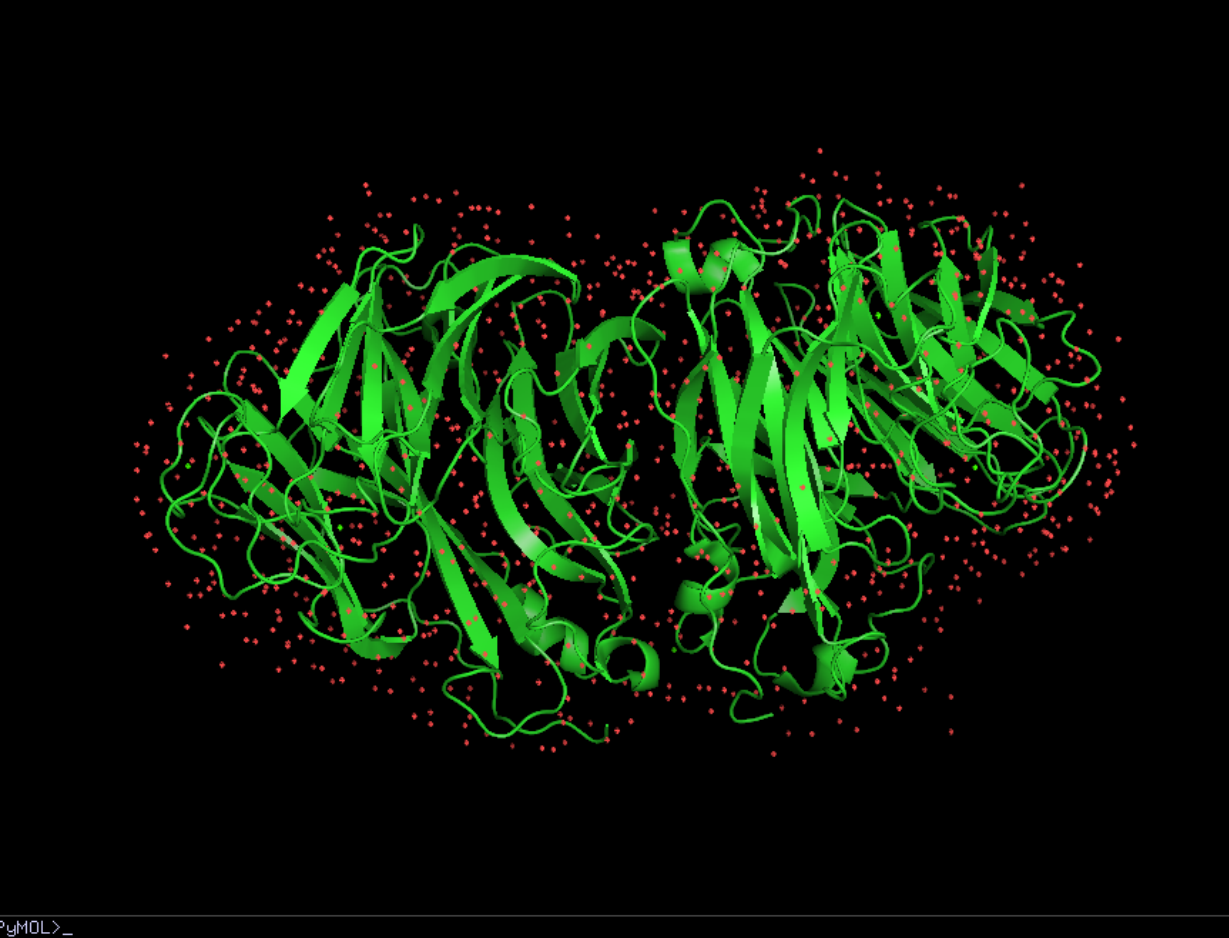
pdb3b7e

- Hide:
- everything
- lines
- sticks
- ribbon
- cartoon
- label
- cell
- nonbonded
- dots
- spheres
- nb_spheres
- mesh
- surface
- main chain
- side chain
- waters
- hydrogens
- unselected

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

Selecting Residues
 State 1/ 1

⏪ ⏩ ⏴ ⏵ ⏶ ⏷ ⏸ ⏹ ⏺ S ▼ F



PyMOL>_

REMARK 3
 REMARK 3 REFINEMENT TARGET : MAXIMUM LIKELIHOOD
 REMARK 3

The PyMOL Molecular Graphics System

File Edit Build Movie Display Setting Scene Mouse Wizard Plugin Help

```

COMPND  MOL_ID: 1;
COMPND  2 MOLECULE: NEURAMINIDASE;
COMPND  3 CHAIN: A, B;
COMPND  4 FRAGMENT: SEQUENCE DATABASE RESIDUES 83-467;
COMPND  5 EC: 3.2.1.18;
COMPND  6 ENGINEERED: YES
ObjectMolecule: Read secondary structure assignments.
ObjectMolecule: Read crystal symmetry information.
Symmetry: Found 8 symmetry operators.
CmdLoad: "Z:/My Documents/pdb3b7e.ent" loaded as "pdb3b7e".
PyMOL>

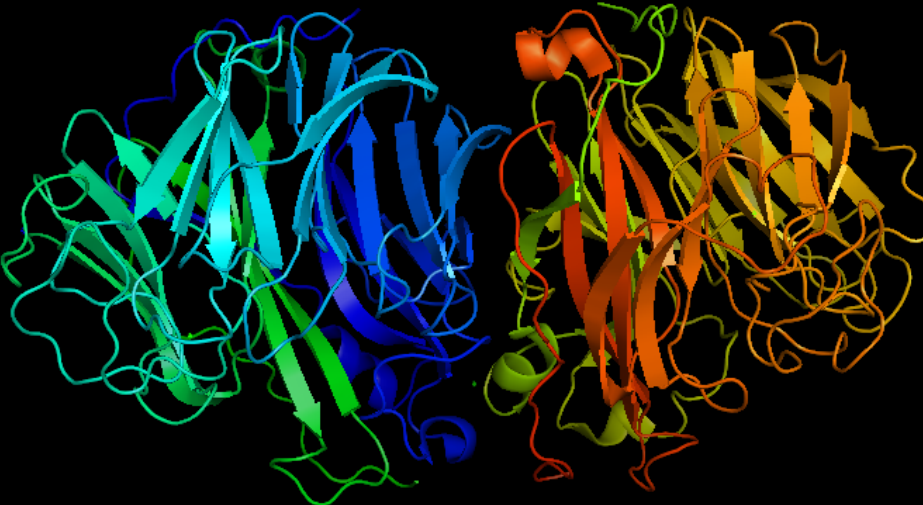
```

Reset Zoom Orient Draw Ray
Unpick Deselect Rock Get View
|< < Stop Play > >| MClear
Command Builder
Rebuild Abort

☆ - pdbj

PyMOL Viewer

or Educational Use Only



PyMOL>

all A S H L C

pdb3b7e Color:

- by element
- by chain
- by ss

Spectrum:

- rainbow(e, c) spectrum
- rainbow(* /ca) auto
- rainbow

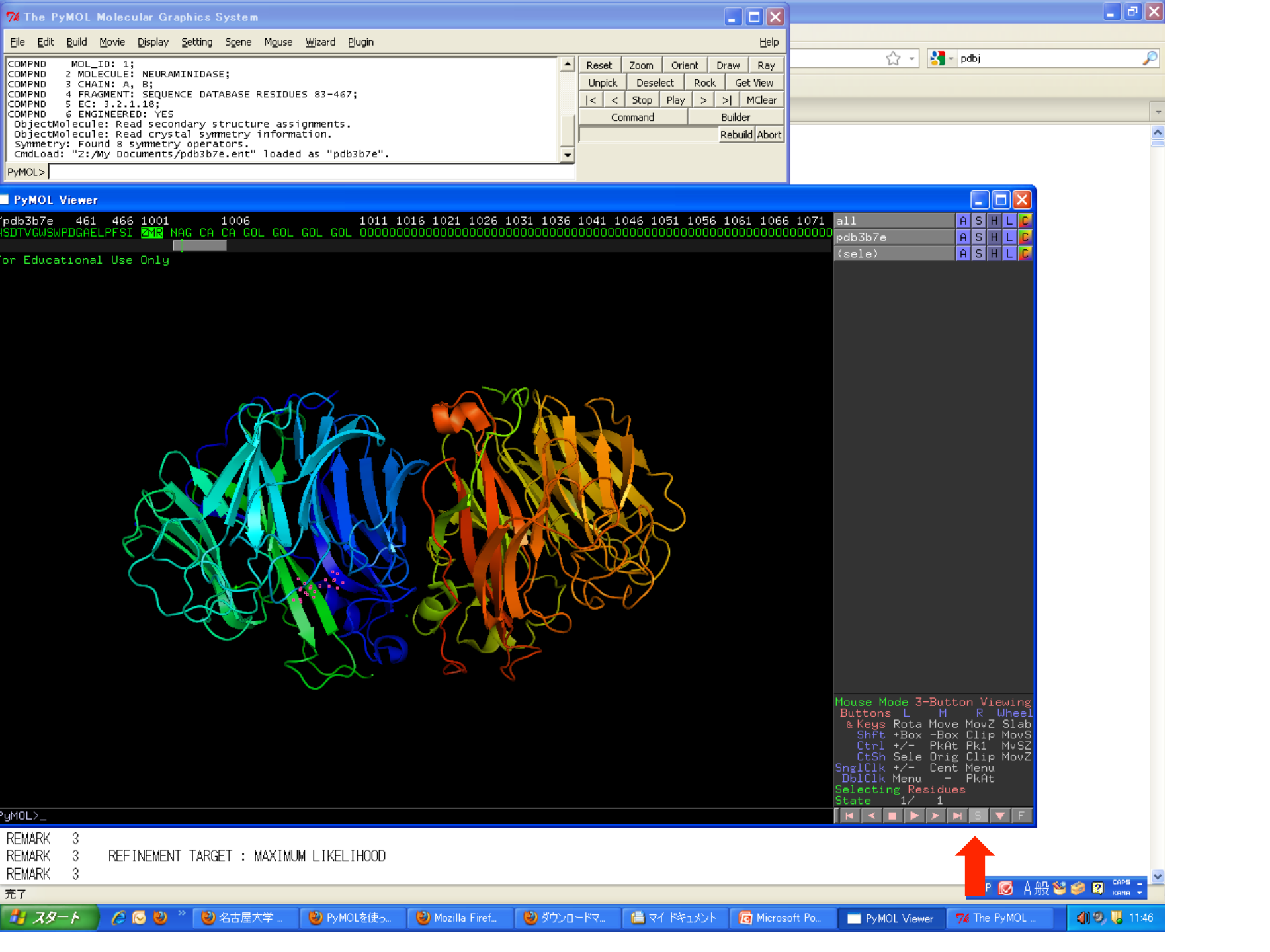
- b-factors reds
- b-factors(* /ca) greens
- blues
- yellows
- magentas
- cyans
- oranges
- tints
- grays

Mouse Mode 3-Button Viewing
Buttons L M R Wheel
& Keys Rota Move MovZ Slab
Shft +Box -Box Clip MovS
Ctrl +/- PkAt PkI MovS
CtSh Sele Drig Clip MovZ
SnglClk +/- Cent Menu
DblClk Menu - PkAt

Selecting Residues
State 1/ 1

PyMOL>

REMARK 3
REMARK 3 REFINEMENT TARGET : MAXIMUM LIKELIHOOD
REMARK 3



The PyMOL Molecular Graphics System

File Edit Build Movie Display Setting Scene Mouse Wizard Plugin Help

```

COMPND MOL_ID: 1;
COMPND 2 MOLECULE: NEURAMINIDASE;
COMPND 3 CHAIN: A, B;
COMPND 4 FRAGMENT: SEQUENCE DATABASE RESIDUES 83-467;
COMPND 5 EC: 3.2.1.18;
COMPND 6 ENGINEERED: YES
ObjectMolecule: Read secondary structure assignments.
ObjectMolecule: Read crystal symmetry information.
Symmetry: Found 8 symmetry operators.
CmdLoad: "Z:/My Documents/pdb3b7e.ent" loaded as "pdb3b7e".
PyMOL>

```

Reset Zoom Orient Draw Ray
 Unpick Deselect Rock Get View
 |< < Stop Play > >| MClear
 Command Builder
 Rebuild Abort

PyMOL Viewer

```

pdb3b7e 461 466 1001 1006 1011 1016 1021 1026 1031 1036 1041 1046 1051 1056 1061 1066 1071 all
SDTVGWSWPDGAELPFSI ZMR NAG CA CA GOL GOL GOL GOL 000000000000000000000000000000000000000000000000000
or Educational Use Only

```

(sele) Action:
 delete selection
 rename selection
 zoom
 orient
 center
 origin
 drag coordinates
 clean
 modify
 preset
 find
 align
 remove atoms
 duplicate
 copy to object
 extract object
 masking
 movement
 compute

Mouse Mode 3-Button Viewing
 Buttons L M R Wheel
 & Keys Rota Move MovZ Slab
 Shft +Box -Box Clip MovS
 Ctrl +/- PkAt Pk1 MvSZ
 CtSh Sele Orig Clip MovZ
 SngClck +/- Cent Menu
 DblClck Menu - PkAt
 Selecting Residues
 State 1/ 1

PyMOL> _

UTF-8 TeraTerm Pro

JP A 般 CAPS KANA

The PyMOL Molecular Graphics System

File Edit Build Movie Display Setting Scene Mouse Wizard Plugin Help

```
COMPND MOL_ID: 1;
COMPND 2 MOLECULE: NEURAMINIDASE;
COMPND 3 CHAIN: A, B;
COMPND 4 FRAGMENT: SEQUENCE DATABASE RESIDUES 83-467;
COMPND 5 EC: 3.2.1.18;
COMPND 6 ENGINEERED: YES
ObjectMolecule: Read secondary structure assignments.
ObjectMolecule: Read crystal symmetry information.
Symmetry: Found 8 symmetry operators.
CmdLoad: "Z:/My Documents/pdb3b7e.ent" loaded as "pdb3b7e".
```

Reset	Zoom	Orient	Draw	Ray
Unpick	Deselect	Rock	Get View	
<	<<	Stop	Play	>>
Command		Builder		
				Rebuild Abort

PyMOL>

PyMOL Viewer

```
pdb3b7e 461 466 1001 1006 1011 1016 1021 1026 1031 1036 1041 1046 1051 1056 1061 1066 1071
SDTVGVSWPDGAELPFSI ZMR NAG CA CA GOL GOL GOL GOL 00000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000
```

or Educational Use Only



all [A] [S] [H] [L] [C]

- pdb3b7e Action:
- (sele) zoom
- orient
- center
- origin
- drag matrix
- reset matrix
- drag coordinates
- clean
- preset
- find
- align
- generate
- assign sec. struc.
- rename object
- duplicate object
- delete object
- hydrogens
- remove waters
- state
- masking
- sequence
- movement
- compute

Mouse Mode 3-Button Viewing

Buttons	L	M	R	Wheel
& Keys	Rota	Move	MovZ	Slab
	ShFt	+Box	-Box	Clip MovS
	Ctr1	+/-	PkAt	Pk1 MvSZ
	CtSh	Sele	Orig	Clip MovZ
SnglClk	+/-	Cent	Menu	
Db1Clk	Menu	-	PkAt	

Selecting Residues

```
State 1/ 1
```

Navigation: [Left] [Previous] [Next] [Right] [Home] [End] [F]

PyMOL>

PDB(Protein Data Bank)ファイルの 中身を見てみよう

- Wordなどによりダウンロードしたpdb3B7E.entを開く。
- 1行80文字(レコード)からなる固定長ファイル
- 各レコードは左側3-6文字からなるレコードタグで識別
- HEADER: PDB、ID日付など
- COMPND: 分子に関する情報
- SOURCE: 由来など
- KEYWD: キーワード
- JRNL: 発表された雑誌
- REMARK: 構造解析に関する情報など

- SEQRES:配列情報
- HET: 非標準残基(配列情報としてあたえられていないもの、補欠分子属、イオン、阻害剤など)
- HETNAM:HETで指定された物質の化学名
- HELIX: α ヘリックス
- SHEET: β シート
- TURN:ターン
- SSBOND:ジスルフィド結合
- SITE: 触媒作用、補助因子など機能に関わる残基などを特定
- ATOM: アミノ酸、核酸などに標準グループに属する原子の座標(原始通し番号、原子名、残基名、鎖名、残基番号、X,Y,Z座標(\AA 単位の直角座標)、占有率、温度因子(B-factor: 結晶中の揺らぎの大きさ)、元素名)
- HETATM: 標準グループ以外の座標

以下の図を作成し、画像データとしてメールに添付し送信すること

- ノイラミニダーゼとZanamivirとの複合体を、それぞれ別の表示方法で表示し、双方の分子が共によく分かるような図を作成せよ。