

# 生物情報工学第15回

## 中野秀雄

([bioinfo@molbiotech-nagoya.org](mailto: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

蛋白質の機能と構造について考察する

DNA-タンパク質複合体の観察

# PDBデータベースにアクセスしてみよう

- Protein Data Bank Japanへジャンプ
- EcoRVをキーワードとしてEcoRV制限酵素とDNAの複合体の立体構造(**1AZ0.pdb**)をダウンロード
  - 1AZ0をクリック
  - Download/Display をクリック
  - PDB format all pdb1az0.ent(389k)のdownloadをクリック
- PyMOLで開く
  - 配列を表示させる
  - Cartoon表示する
  - DNA2重鎖の結合の様子を観察する。

MacPyMOL

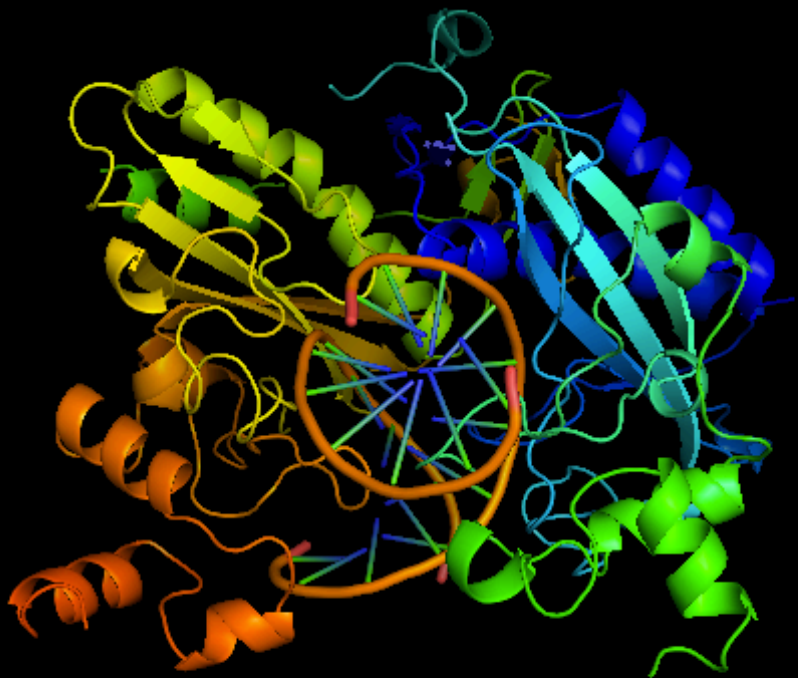
You clicked /pdb1az0//C/DA`901/C6  
 Selector: selection "sele" defined with 18 atoms.  
 You clicked /pdb1az0//C/DA`901/C6  
 Selector: selection "sele" defined with 30 atoms.  
 You clicked /pdb1az0//C/DA`901/O4'  
 Selector: selection "DNA1" defined with 253 atoms.  
 PyMOL>help segments  
 Error: unknown topic: 'segments'.

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

PyMOL>

```
/pdb1az0 906 /D/27 120 162 301 806
DA DA DG DA DT DA DT DC DT DT 00000000000000 DA DA DA DG DA DT DA DT DC DT DT
```

all	A	S	H	L	C
pdb1az0	A	S	H	L	C
measure01	A	S	H	L	C
(DNA2)	A	S	H	L	C
(sele)	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  
 DblClk Menu - PkAt  
 Selecting Residues  
 State 1/ 1

PyMOL>eresi\_

Navigation icons: Home, Left, Right, Stop, Play, Next, Previous, Refresh, Close

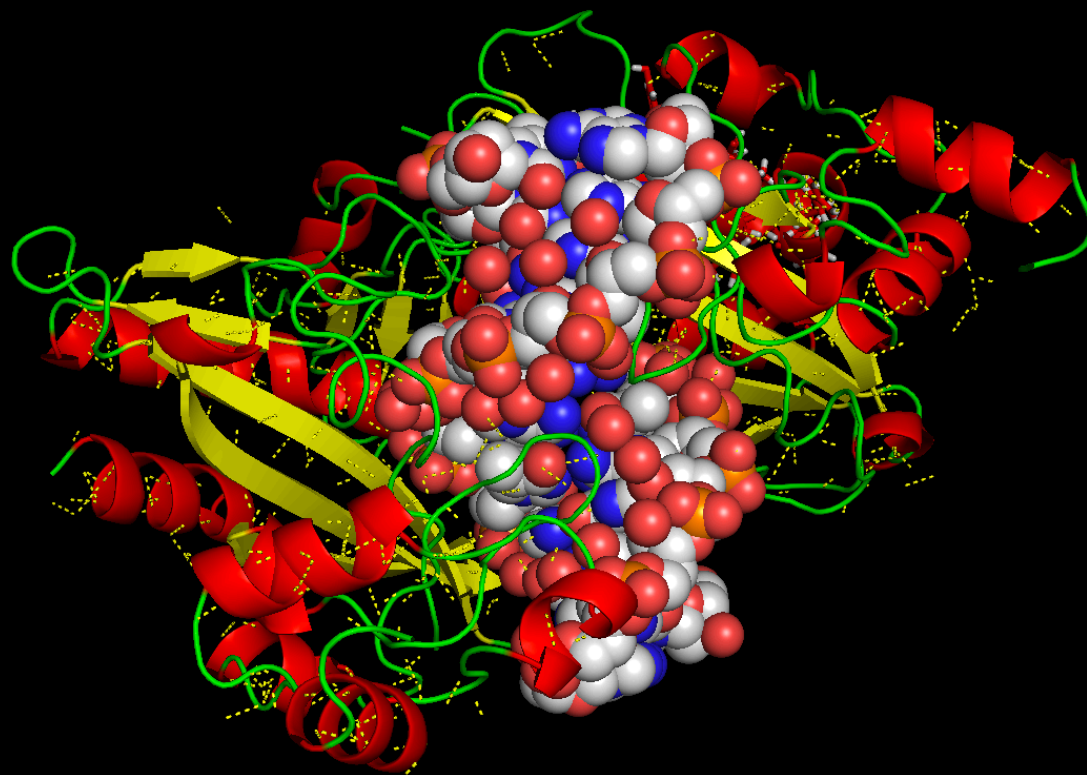
- >select a, chain a or chain b
- >select r, chain c or chain d
- タンパク質とDNAを別モードで表示

# 水素結合を観察してみよう

- 全タンパク質をスティック表示
- 水素を付加する。action:hydrogens:add
- 各原子の色を、元素ごとに表示
- 水素結合を表示させる。action:find:polar contact:within selection
- 水素結合の表示・非表示の切り替え
- DNA二重鎖間の水素結合観察
- $\alpha$ ヘリックスと $\beta$ シートの水素結合を観察

PyMOL>

/pdb1az0//A/2 6 11 16 21 26 31 36 41 46 51 56 61 66 71 76 81 86 91 96 101 106 111 116 121 126 131 136 141 156 161 166 171 176 181 186 191 196 201 206 211 216 221  
SLRSDLIHALYDENQKYDVGII SAEGKIYPLGSDTKVLSTIFELFSRPIINKTAEKHGIVVEEPKQNHYPDFTLKPSSEPNKIIAIDIKTTYTNKENEKIKFTLGGYTSFIRNNTKNIIVYFPDQYIARWIGYVYTRVKTYNIHELNEIPKPYKGVKVFLODKNVIAGDLAAGSGNTTNI GSIHAHYKDFVEGKGFIDSEDFLDYMRHYERTS



PyMOL>

# ゲノム編集技術 Crsiper/Cas9

(a)

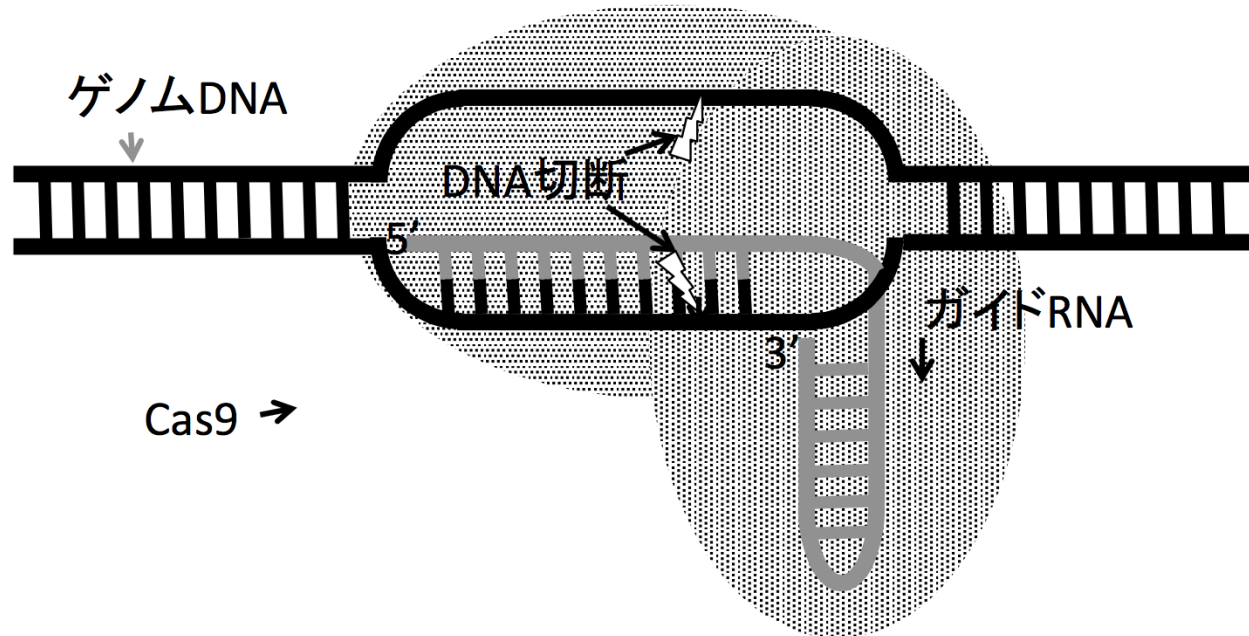


図 6.6 CRISPER/CAS9ゲノム編集技術概要。

(a) Cas9がガイドRNAに導かれてゲノムDNAを特定の場所で切断

(b)

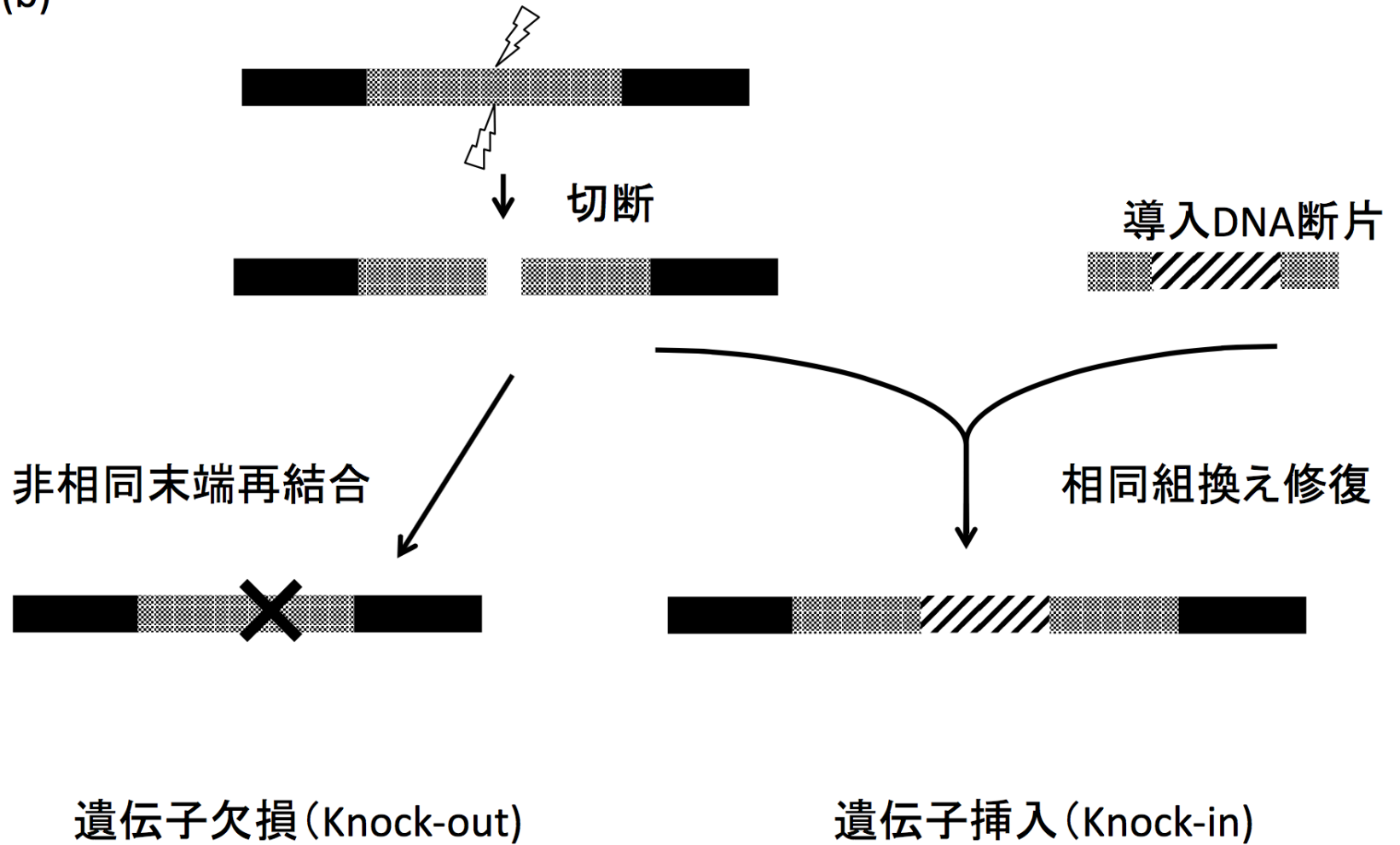


図 6.6 CRISPER/CAS9ゲノム編集技術概要。

(b) ゲノム切断後、ゲノム修復作用により遺伝子欠損(左)、



# PDBjよりCrisper/Cas9 とターゲット DNAとの複合体をダウンロード

- 5CZZをダウンロード
- Cas9ターゲットDNAおよびガイドRNAを別の色で表示

COMPND 18 MOLECULE: DNA (5'-D('TP'GP'AP'AP'TP'AP'G)-3');  
 COMPND 19 CHAIN: D;  
 COMPND 20 ENGINEERED: YES;  
 COMPND 21 OTHER\_DETAILS: NON-TARGET DNA  
 ObjectMolecule: Read secondary structure assignments.  
 ObjectMolecule: Read crystal symmetry information.  
 Symmetry: Found 4 symmetry operators.  
 CmdLoad: "/Users/nakanohideo2/Dropbox/1701/pdb5czz.ent" loaded as "pdb5czz".

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

PyMOL>

```

/pdb5czz 71 101 201 206 211 /C/1 6 11 16 21 26 101 /D/1 6 101 201 206
A A U G C C G U G U U U NA P04 EDO 0000000000000000 DC DT DA DT DT DC DA DA DG DC DC DA DA DG DC DT DA DA DT DT DT DC DC NA 0000 DT DT DG DA DA DA DT DA DG EDO 0000000000
  
```

all A S H L C  
 pdb5czz A S H L C  
 (sele) A S H L C



Mouse Mode 3-Button Viewing  
 Buttons L M R Wheel  
 & Keys Rota Move MovZ Slab  
 Shift +Box -Box Clip MovS  
 Ctrl +/- PKAt PK1 MovS2  
 CtSh Sele Orig Clip MovZ  
 SnglClk +/- Cent Menu  
 DbClk Menu - PKAt  
 Selecting Residues  
 State 1/ 1

PyMOL> z\_

- >select a, chain a
- >select r, chain b or chain c or chain d
- >action>hydrogen>add 水素付加
- 全部消す
- (r)を選択し、スティック表示
- (r)を選択し、>action>find>polar contact>within selection
- 水素結合観察

PyMOL>

pdb5ezz 16 21 26 31 36 41 46 51 56 61 66 71 101 201 206 211 /C/1 6  
U G C G C U U G G C G U U U A G U A C U C U G G A A C A G A A U C U A C U A R A A C A G G C A A A U G C C G U G U U U N A P 0 4 E D O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0



all A S H L C  
 pdb5ezz A S H L C  
 (sele) A S H L C  
 pdb5ezz\_polar\_co A S H L C  
 (a) A S H L C

(r) Action:  
 r\_polar\_co delete selection  
 rename selection  
 zoom  
 orient  
 center  
 origin  
 drag coordinates  
 clean  
 modify  
 preset

Polar Contacts:  
 within selection  
 involving side chains  
 involving solvent  
 excluding solvent  
 excluding main chain  
 excluding intra-main chain  
 just intra-side chain  
 just intra-main chain  
 to other atoms in object  
 to others excluding solvent  
 to any atoms  
 to any excluding solvent

Find:  
 polar contacts  
 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  
 Ctr1 +/- PkAt Pk1 MvSZ  
 CbSh Sele Orig Clip MovZ  
 SnglClk +/- Cent Menu  
 Db1Clk Menu - PkAt  
 Selecting Residues  
 State 1/ 1

PyMOL>z\_

# 課題：以下の図を作成し、wordファイルに 貼り付けて提出

- 授業の感想
- Crisper/Cas9の複合体を表示させ、DNA、RNA、タンパク質間の水素結合について観察し、図を作成する。

