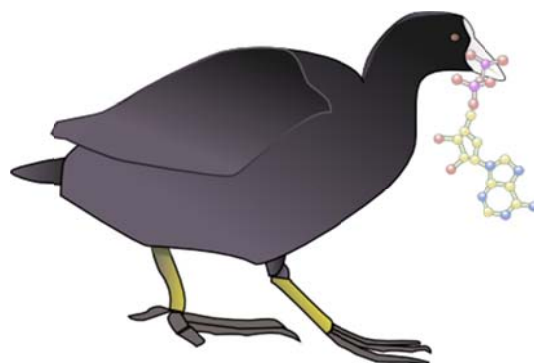


分子モデルの構築 – Coot とともに –

Ver. 0.05

モデル構築用グラフィックスソフトウェアである COOT を使用する。アカデミックフリーで使用できる。



0. マウスはあると格段に便利

1. Coot をインストール

Windows 版 <http://www.ytbl.york.ac.uk/~lohkamp/cool/wincool.html>

OSX 版 http://scottlab.ucsc.edu/xtal/wiki/index.php/Installing_Coot_on_OS_X

Linux 版 <https://www2.mrc-lmb.cam.ac.uk/personal/pemsley/cool/>


を参考のこと

WinCoot-0.8.6.1 の場合

ダウンロードサイズは 190MB

展開サイズは 1GB

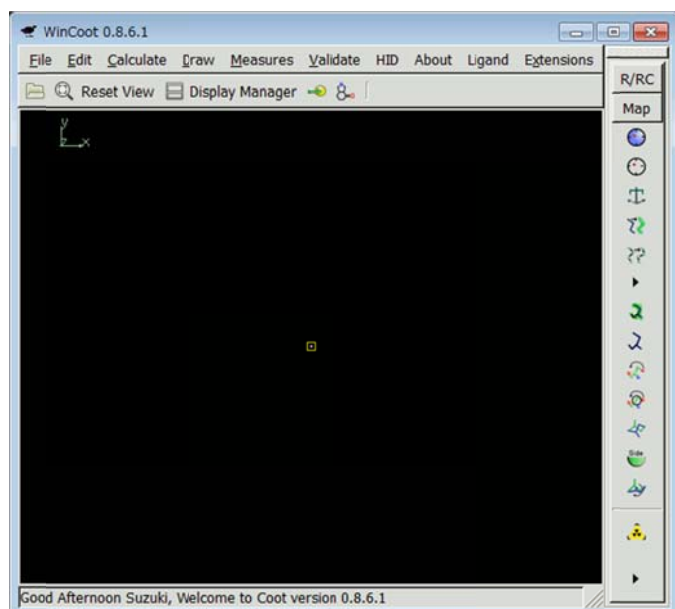
2. Coot の起動

Windows Coot のアイコン  をダブルクリック

OSX Coot のアイコンをシングルクリック？

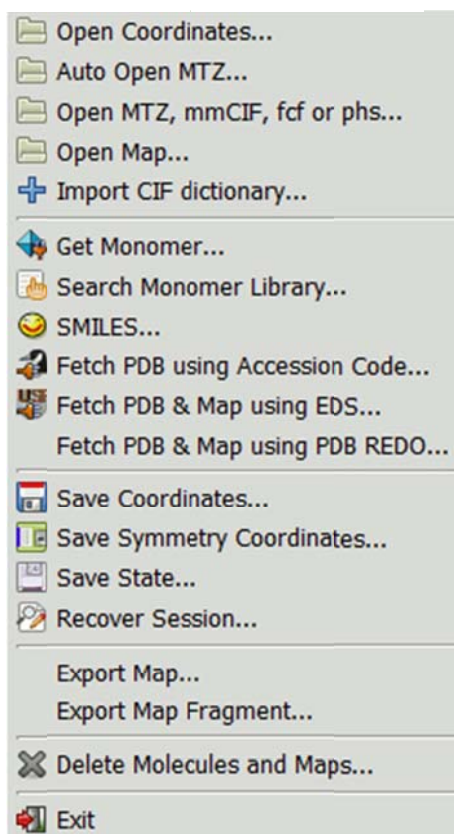
Linux コマンドウィンドウで `cool`

こんな画面が表示されます。

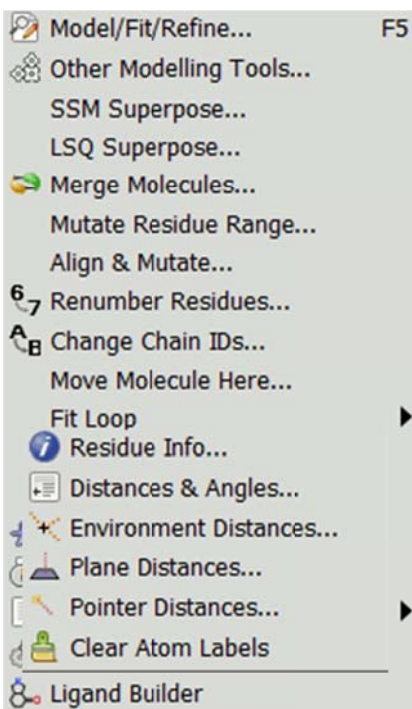


上部メニューの紹介

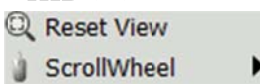
File : PDB ファイルの読み書き



Calculate : モデルの精密化



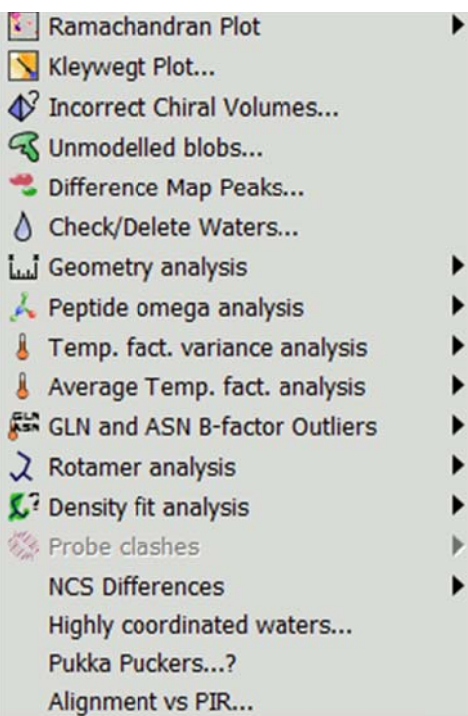
HID : ?



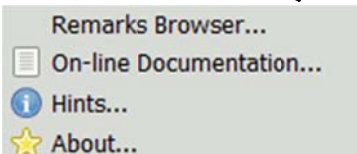
Ligand : ?

Isolated dots for this ligand

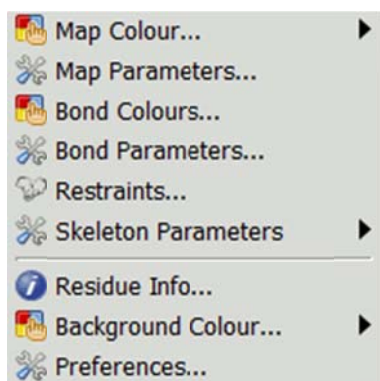
Validate : 構造の妥当性のチェック



About : マニュアル等



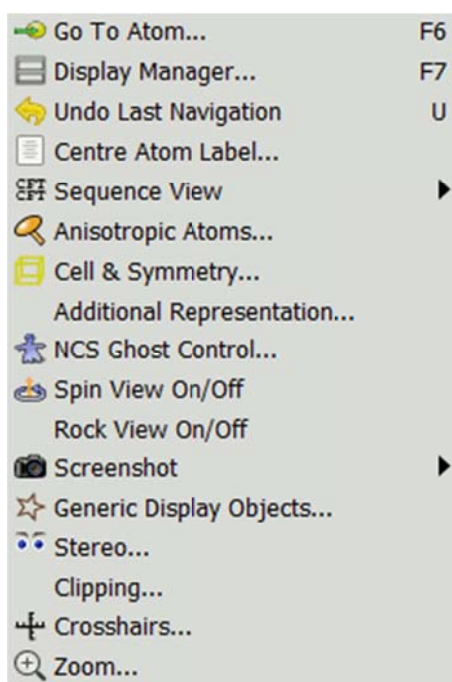
Edit: モデルの色変更など



Measures: 距離等の表示

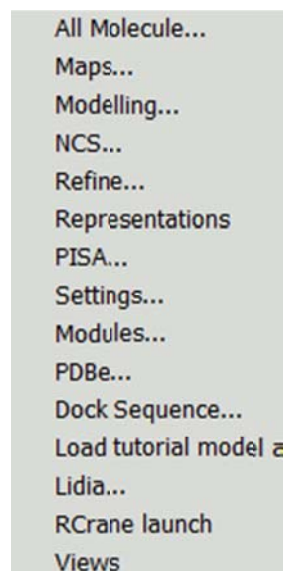


Draw: 表示残基の変更など

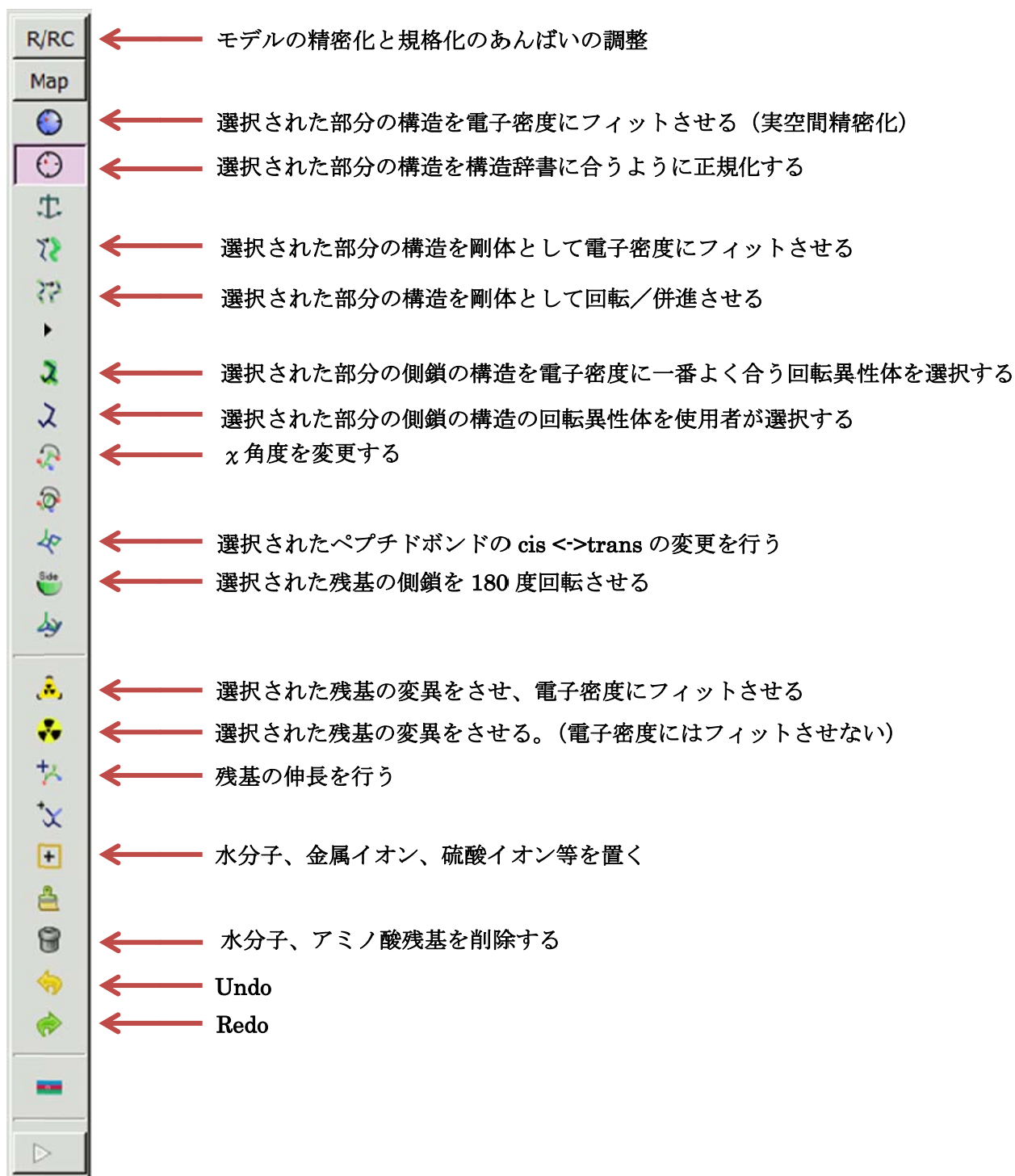


Extensions: 機能

豊富なツール類



サイドメニューの紹介



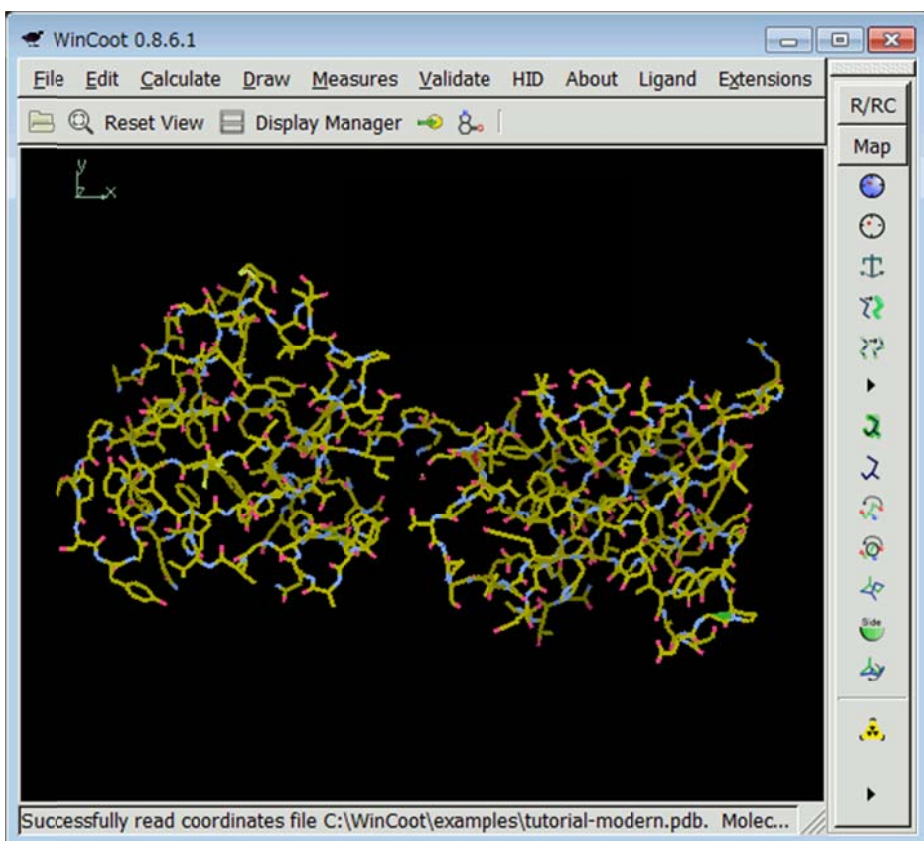
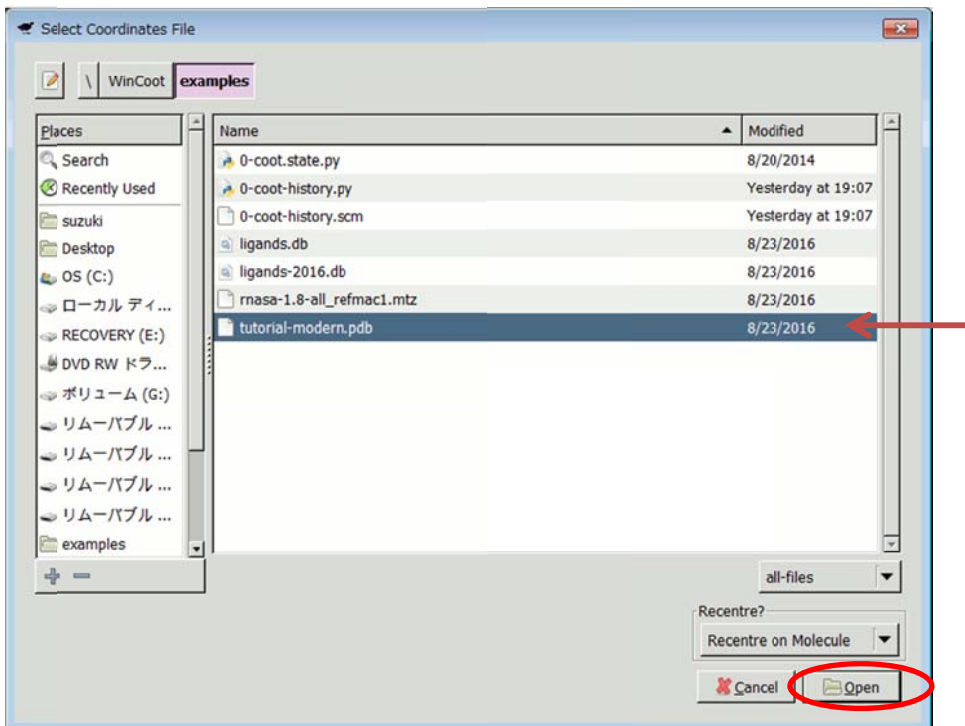
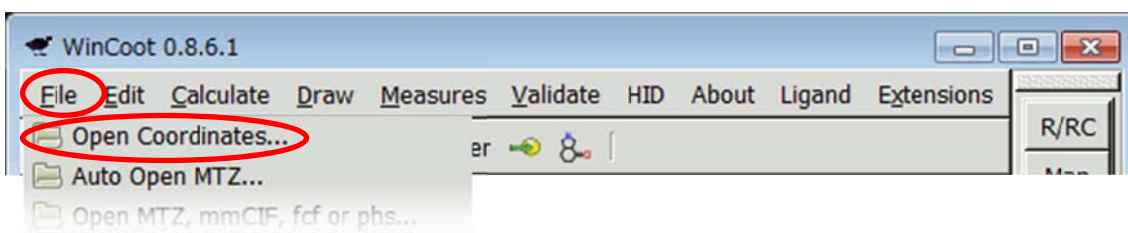
マウスの操作方法

- 左クリック・・・モデルを回転できる (いろいろな方向から電子密度への合い具合をチェック)
- 中クリック・・・選択した原子を回転中心にする
- 右クリック・・・モデルの拡大/縮小
- Cntl+左クリック・・・モデルの併進
- Cntl+右クリック・・・表示の奥行きの変更 (奥行きを適度に制限しないと分子が見えにくい)
- ホイールの回転・・・電子密度の表示レベルの変更 (1.0 sigma で見ることが多い)

キーボードショートカット

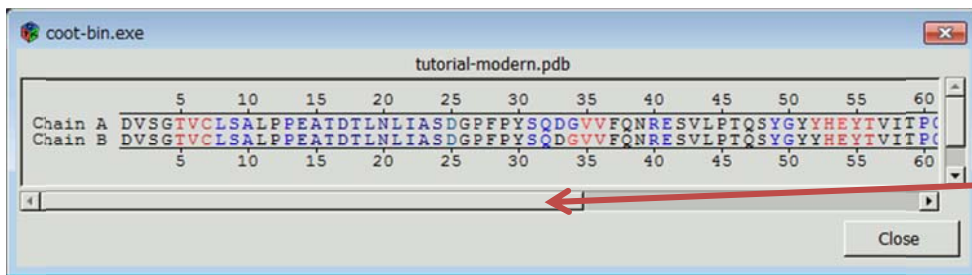
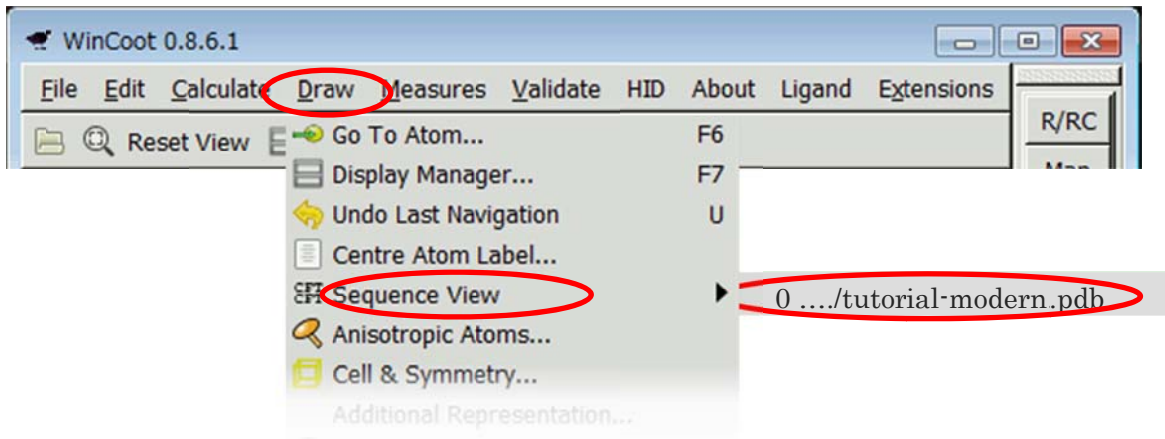
- Space・・・次の残基に回転中心を移動
- Shift+Space・・・前の残基に回転中心を移動

3. 分子モデル(PDB)ファイルの読み込み (File -> Open Coordinates...->tutorial-modern.pdb ->Open)

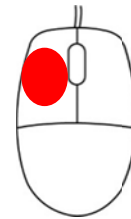


マウスを使って、ぐるぐる回したり、動かしたり、ズームしたりしてみてください。

4. シークエンスを見よう (Draw->Sequence View -> tutorial-modern.pdb)

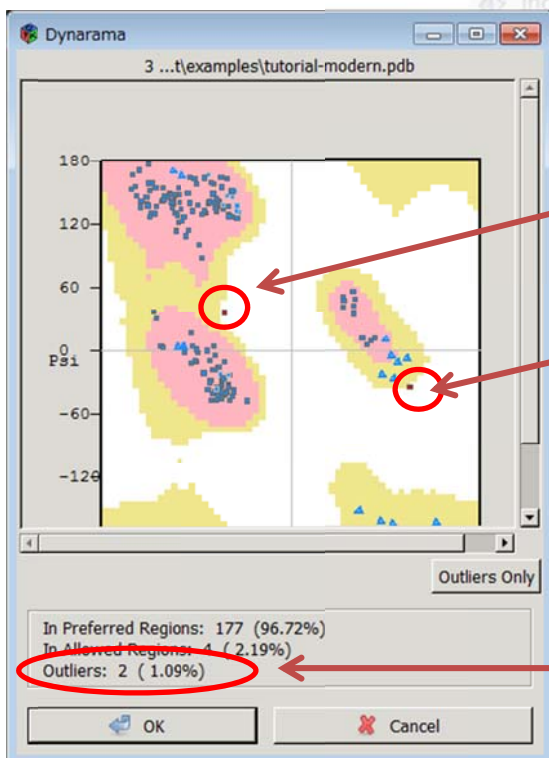
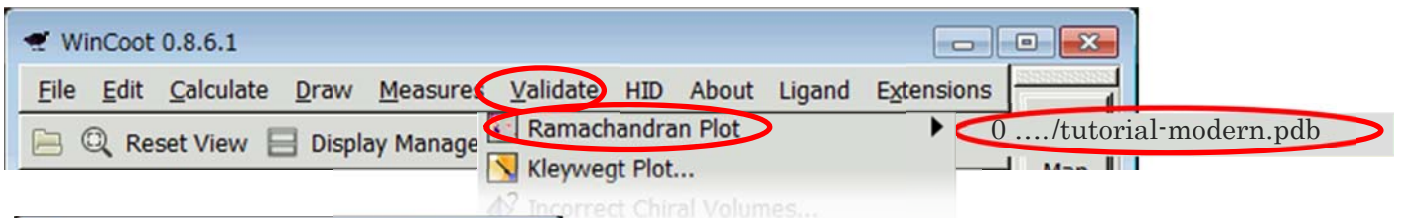


マウス左ボタンでドラッグ



同じアミノ酸配列の二本のポリペプチド鎖が存在し、最初の残基はアスパラギン酸であり、A鎖の最後は93番、B鎖の終わりは96番であることがわかる。

5. ラマチャンドランプロットを見よう (Validate->Ramachandran Plot -> tutorial-modern.pdb)



42 A SER

A鎖の42番のセリン

41 A GLU

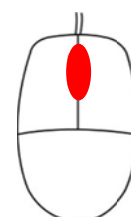
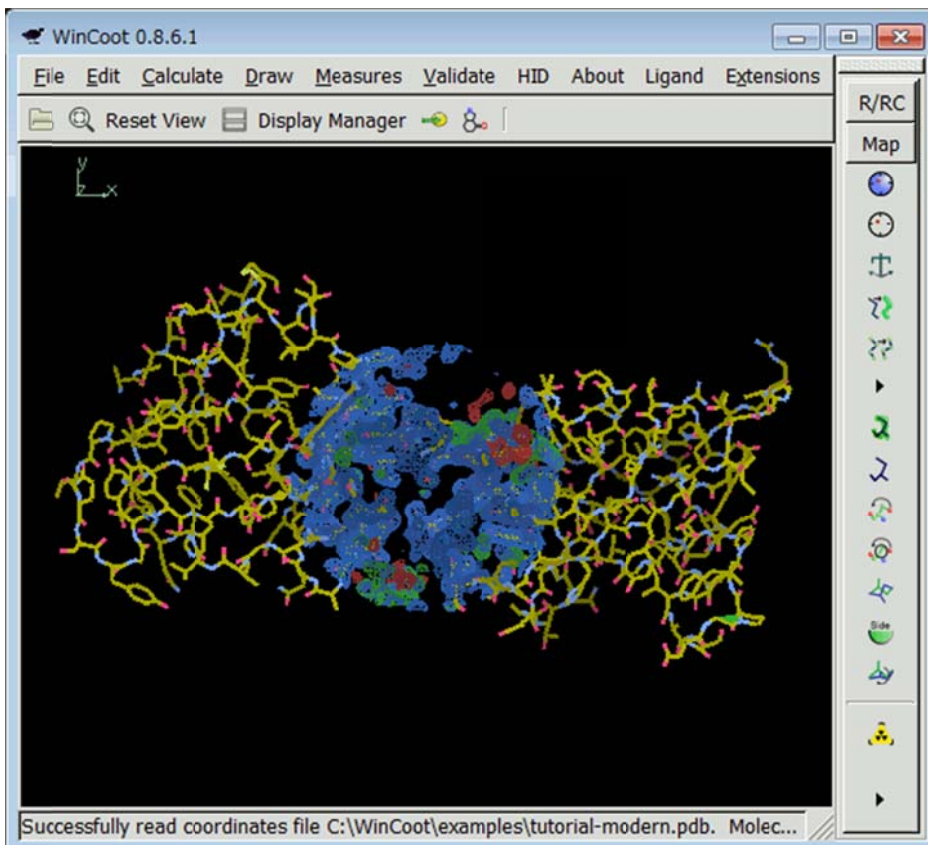
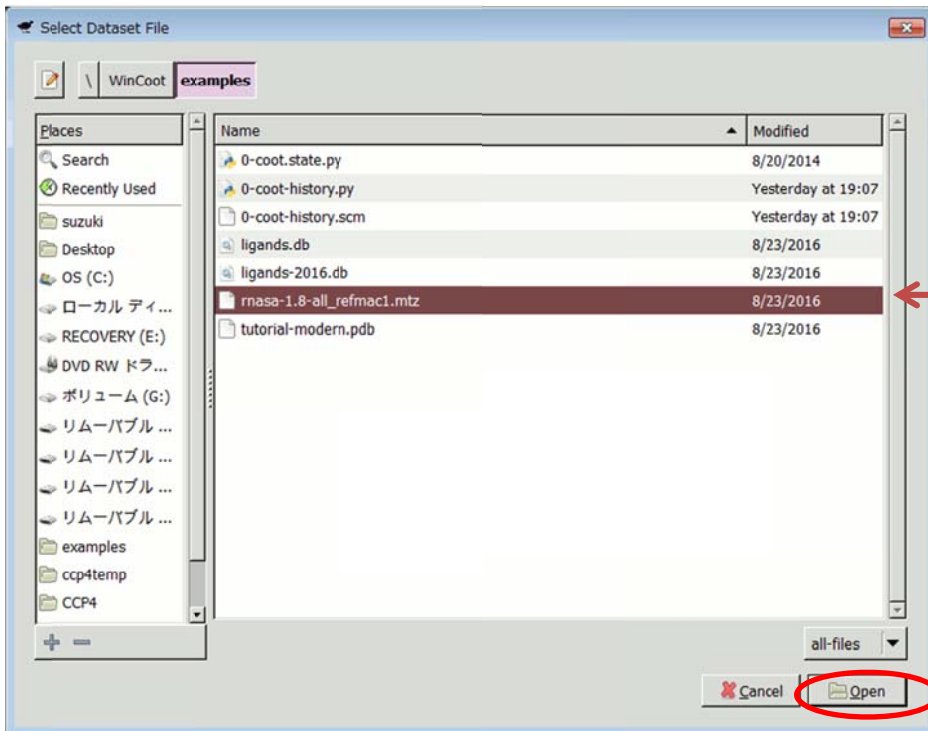
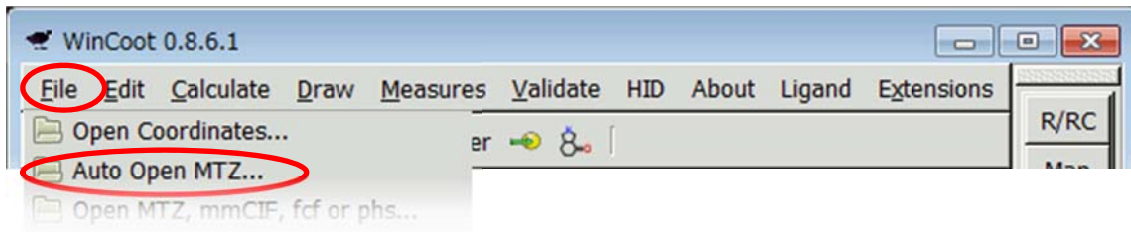
A鎖の41番のグルタミン酸

△は GLY

Outlier はゼロが望ましい

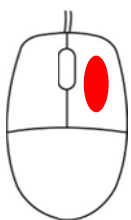
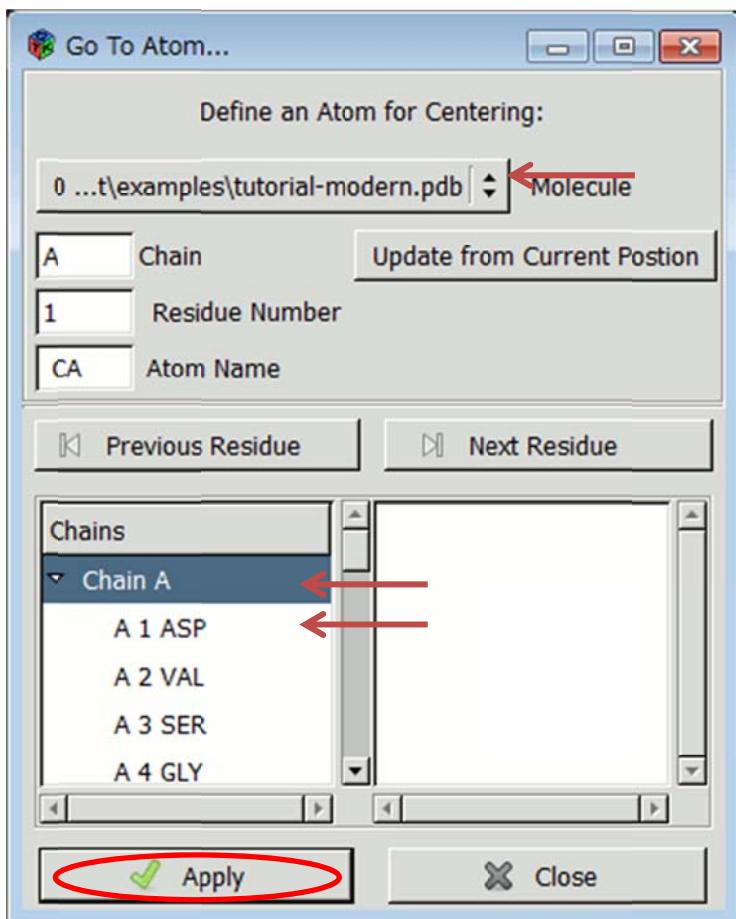
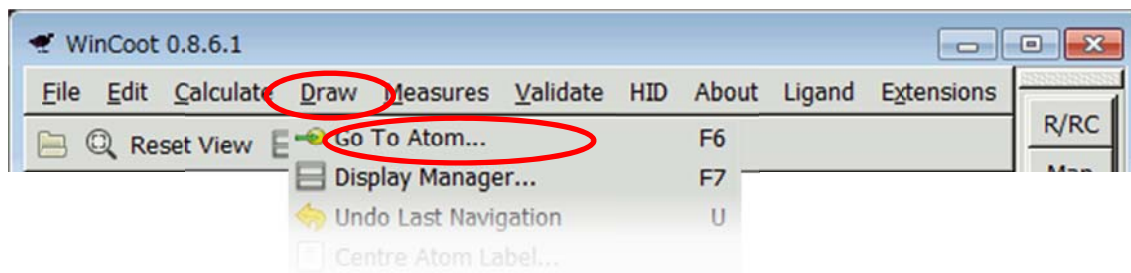
6. 構造因子、位相ファイル(mtz)の読み込み (File ->Auto Open MTZ...

->rnasa-1.8-all_refmac1.mtz ->Open)

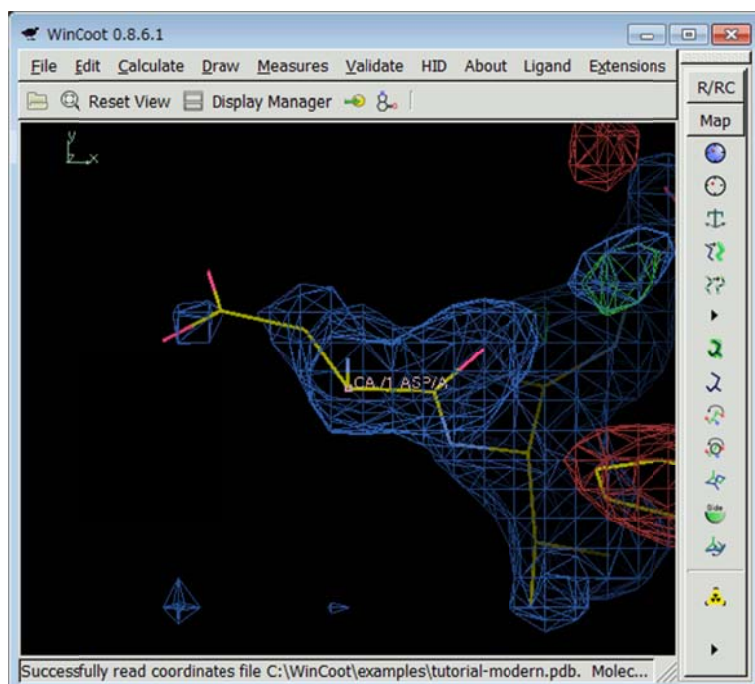


電子密度（青、緑、赤）が表示されます。ホイールを回して表示レベルを 1.00rmsd 付近にしてください。

7. A鎖の1番目の残基を画面の中心にしてみよう (Draw->Go To Atom->Chain A-> A 1 ASP ->Apply)



グラフィックス画面上で右ボタンを押したままマウスを動かし拡大してA鎖1番のアスパラギン酸の構造を見やすくする。






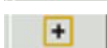



電子密度とモデルのフィット具合を見ていきましょう。**スペース**で次の残基に移動します。
前の残基に戻るには**Shift+スペース**です。

見どころは

A 鎖の 41、63 の側鎖の横に浮かんでいる四面体の電子密度、72、89、93 付近
B 鎖の 96 の C 末端
モデルの周りの浮かんでいる球形の電子密度

以下の機能を上手に使って

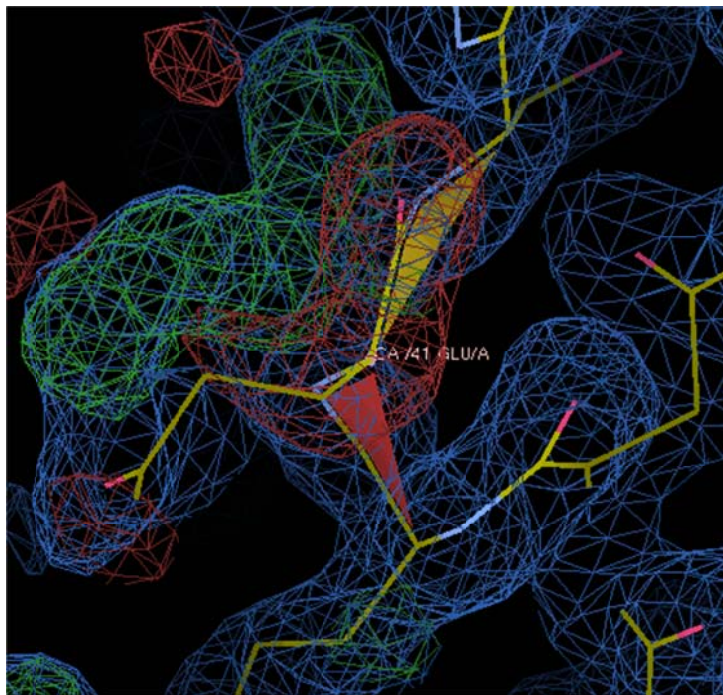
サイドメニューの		Real Space Refine Zoon(実空間精密化)
サイドメニューの		Regularize Zone
サイドメニューの		Rotamers
サイドメニューの		Simple Mutate
サイドメニューの		Add Resides..
サイドメニューの		Place Atom at Pointer..
サイドメニューの		Undo


Calculate->Other Modeling Tools-> Add OXT to Residue..

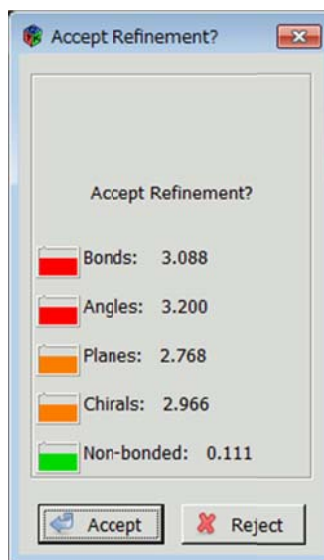
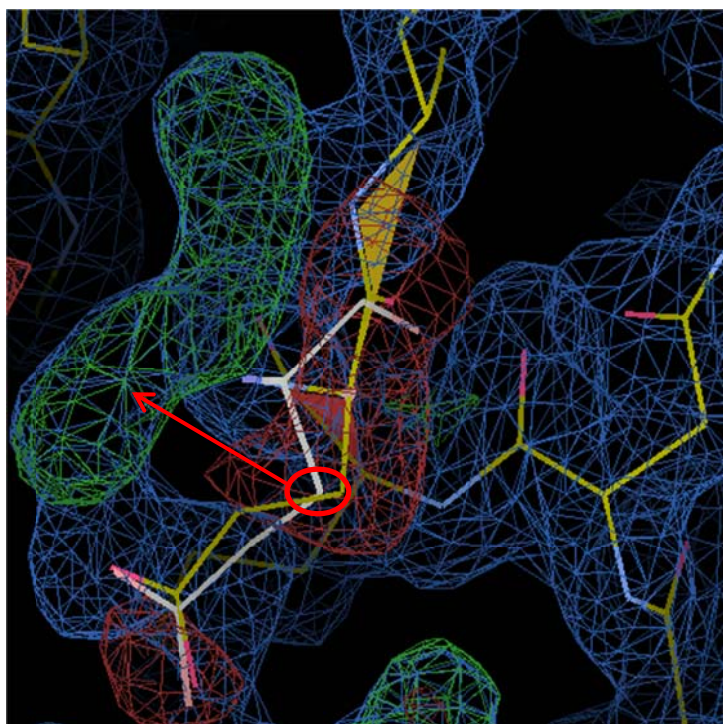
すべてのモデルを青あるいは緑の電子密度にフィットさせる。
最終的に Ramachandran plot の Outliers の残基数はゼロになるはず。

8. モデルの修正

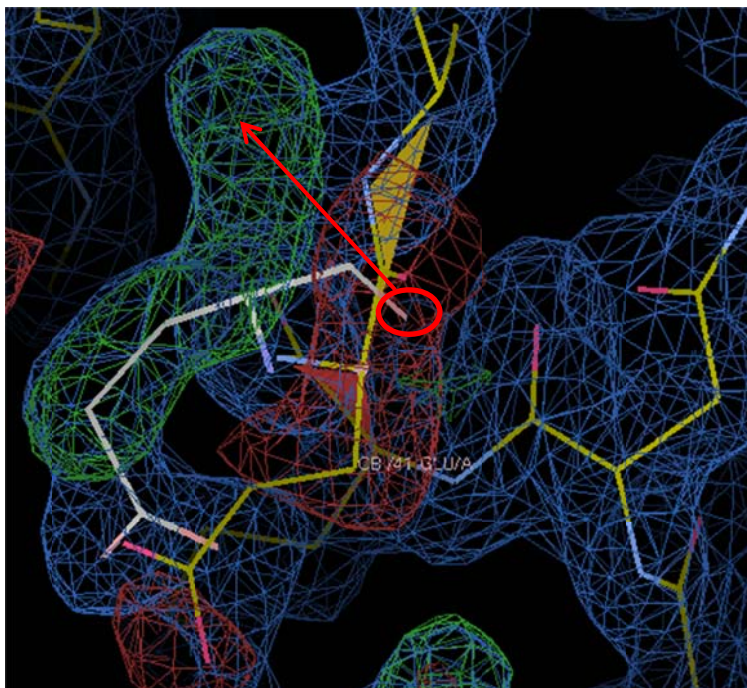
A鎖 41 GLU・・・全体の赤い電子密度で覆われ、すぐ隣に青と緑の電子密度が確認できる



 (Real Space Refinement)をクリック後、A41 のどれかの原子を2回クリックすると A41 番の炭素が白い線で表示される。構造情報が別の画面に表示される。良い構造ならすべてが緑色になるはず。



マウス左ボタンで **A41 の CB 原子** をドラッグして左の緑のかごに引っ張り、ボタンを離すと次の図のように側鎖部分は緑の電子密度によく合うようになり、構造情報は改善されつつある。

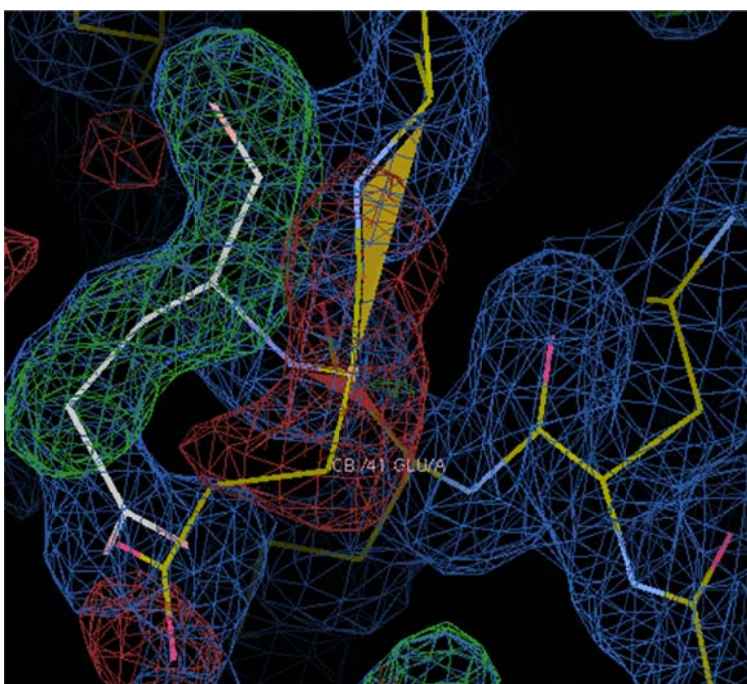


Accept Refinement?

Accept Refinement?

	Bonds: 2.525
	Angles: 4.424
	Planes: 1.499
	Chirals: 1.237
	Non-bonded: 0.000

マウス左ボタンで **A41のO原子** をドラッグして左の緑のかごに引っ張り、ボタンを離すと次の図のようにカルボニル部分も緑の電子密度によく合うようになり、構造情報は改善されつつある。

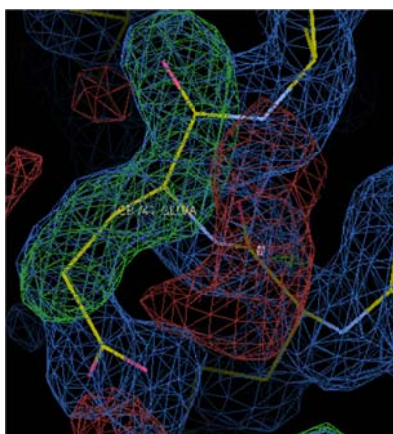


Accept Refinement?

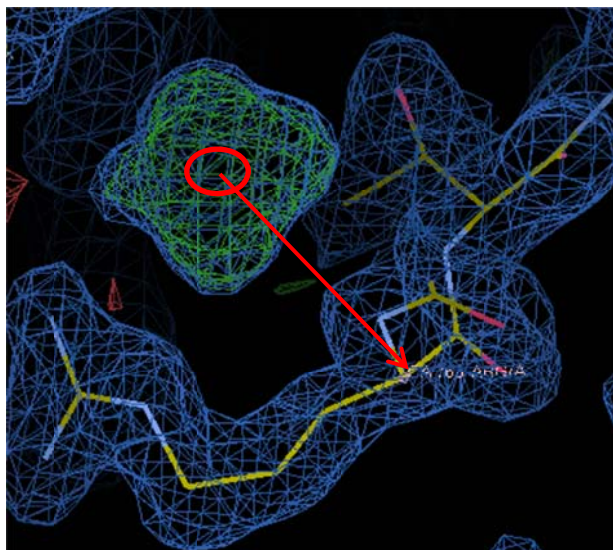
Accept Refinement?

	Bonds: 2.391
	Angles: 1.869
	Planes: 1.559
	Chirals: 1.064
	Non-bonded: 0.000


Accept をクリック。これでこの残基のフィッティング終了。

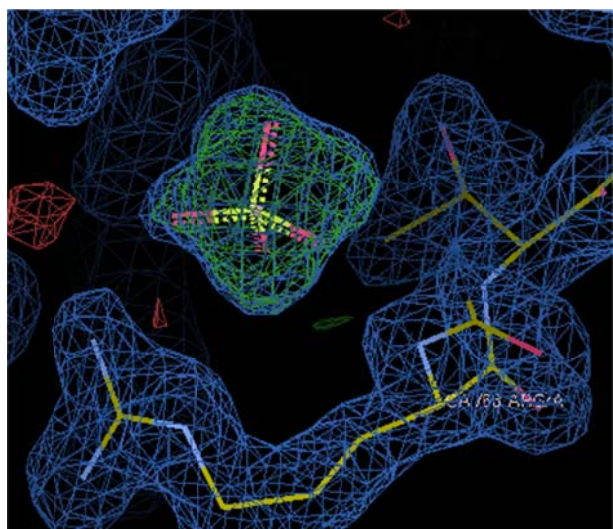
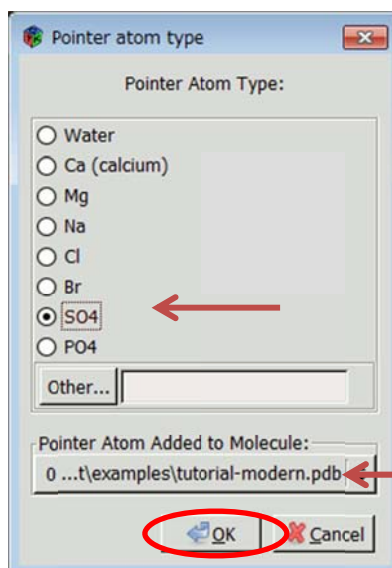
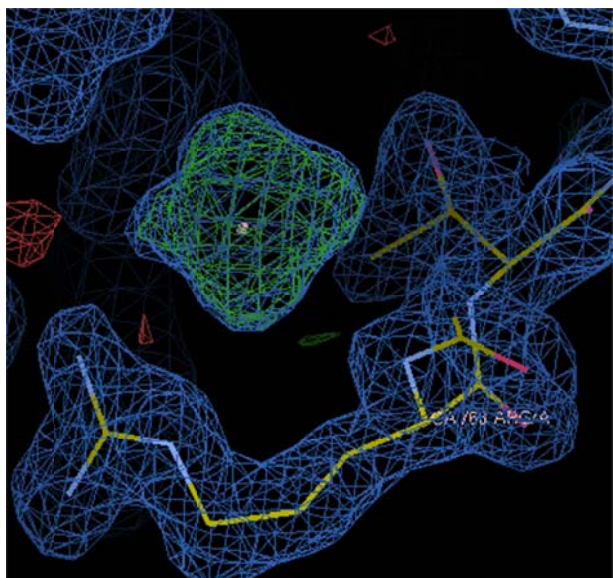



A 鎖 63 ARG の近傍にある正四面体の電子密度は？



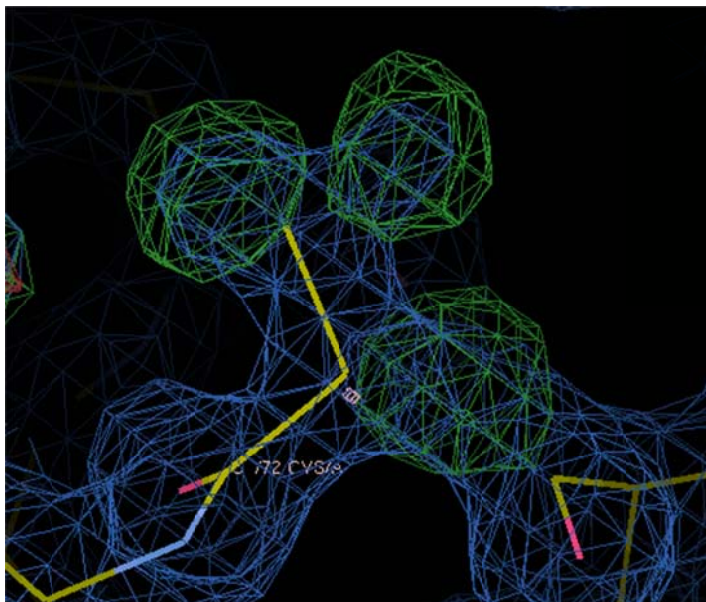
マウスのホイールボタンで四面体電子密度の中心をドラッグして、回転中心まで平行移動。形から、この分子は結晶化で使用された硫酸イオン(SO₄²⁻)と予想。

 Place Atom a Pointer をクリック







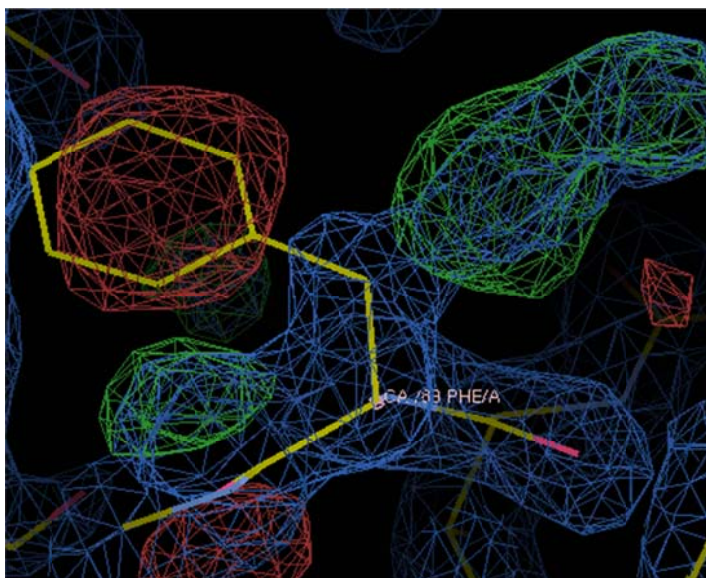
硫酸イオンが追加された。電子密度の形と硫酸イオンの向きがしっくりこない時には、 Real Space Refinement をするととても正四面体電子密度と硫酸イオンがぴったりフィットしていることがわかる。

ぐるぐる回して確認。



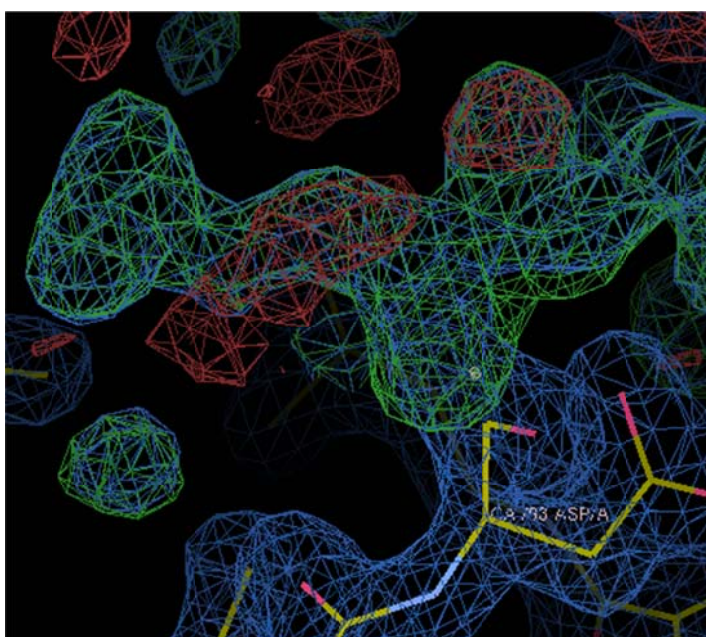
A 鎖 72CYS・・・電子密度ではちゃんとあるのに、モデルの窒素原子と側鎖の硫黄原子が無い。

-  Delete Items で A72 を削除
-  Add Residues で残基を追加(ALA)
-  Simple Mutate で ALA から CYS へ変換
-  Real Space Refinement






A 鎖 83 PHE・・・側鎖が赤い電子密度で覆われ、近くに青と緑の電子密度が確認できる

-  Real Space Refinement



A 鎖 93 下流・・・青と緑の電子密度が確認できる

-  Add Residues で残基を追加(ALA)
-  Simple Mutate で ALA から GLU へ変換
-  Real Space Refinement

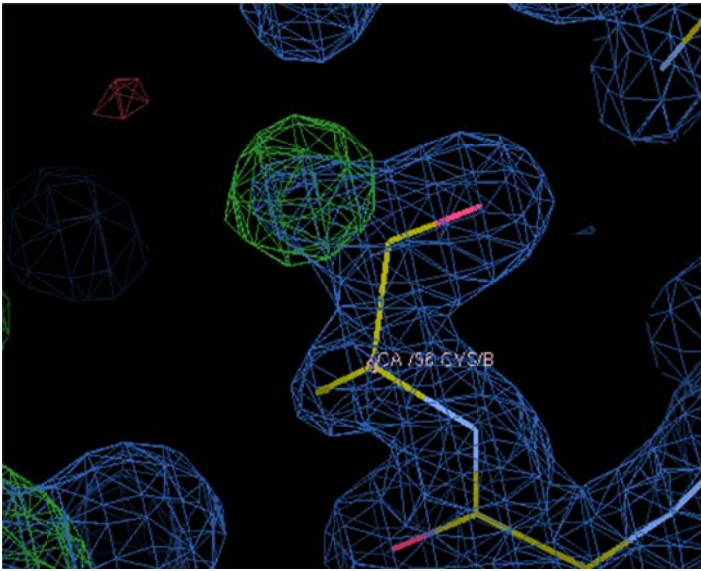
これを繰り返す。配列は

A94 GLU

A95 THR

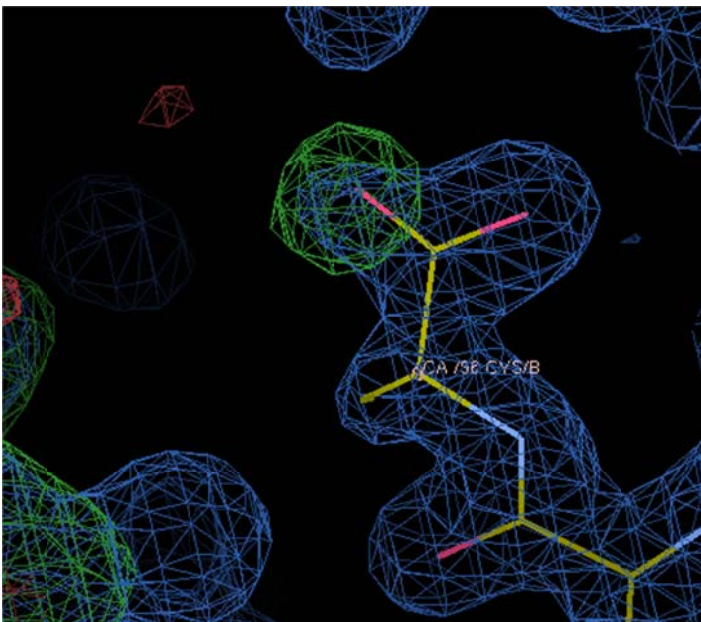
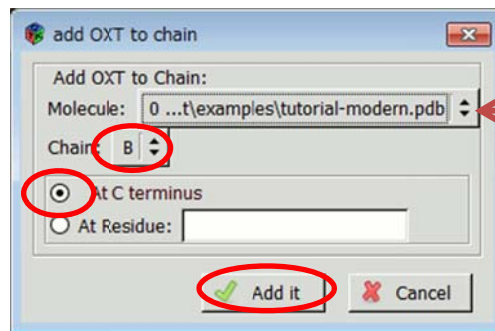
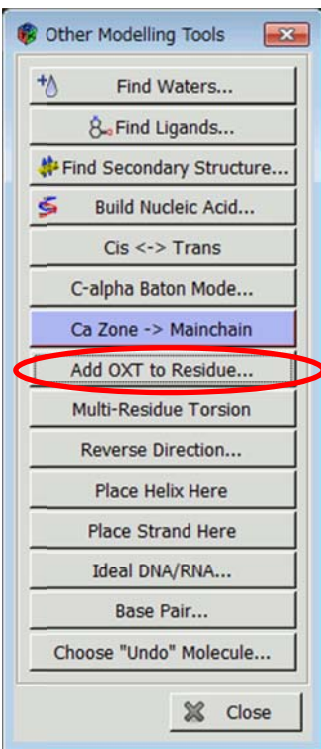
A96 CYS

である。



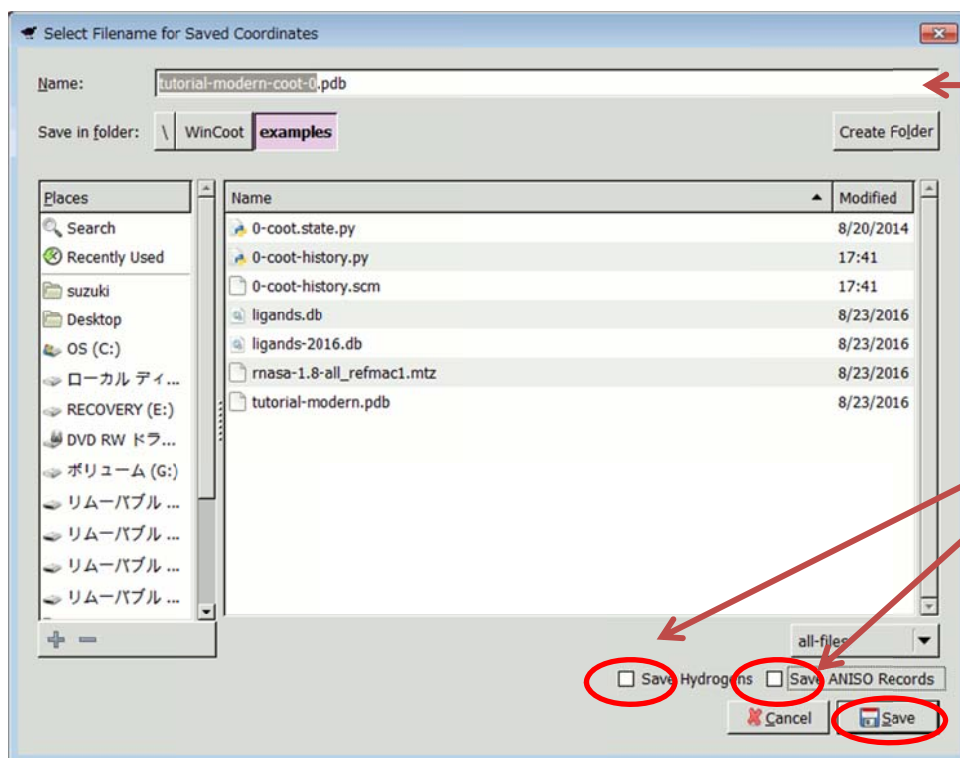
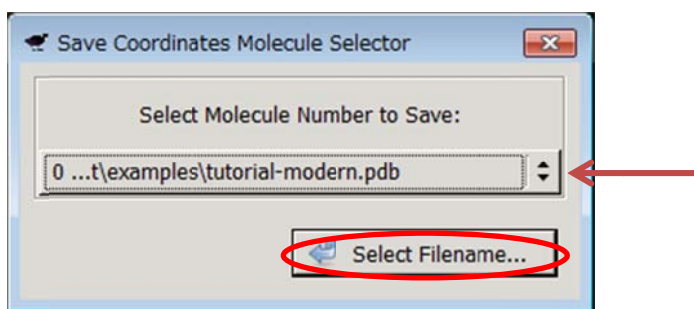
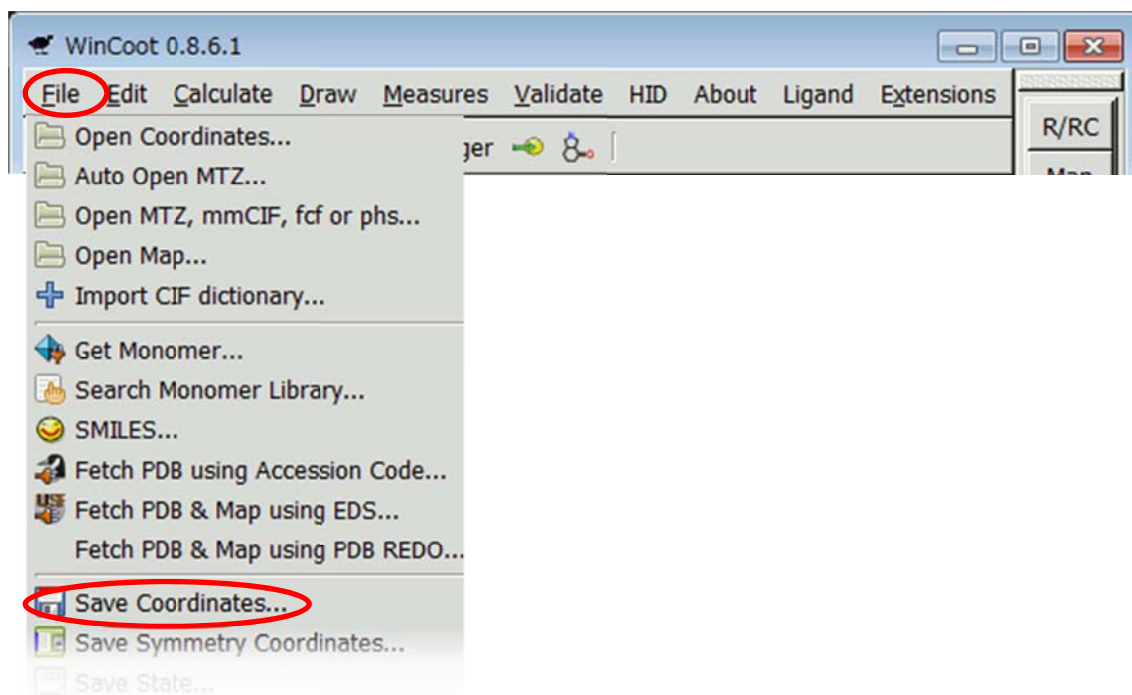
B鎖 96 CYC・・・C末端の残基なので酸素原子がもう一つ必要。

Calculate Other Modelling Tools...



操作後

9. 結果の保存 (File -> Save Coordinates...->tutorial-modern.pdb ->Select Filename.. ->)



デフォルトでも良いがわかりやすい名前がベター

チェックマークを外す