

TSUBAME 共同利用 令和 2 年度 学術利用 成果報告書

利用課題名 革新的 4 次元イメージング法: 生体分子構造変化の高解像度解析への挑戦

英文: A Novel Four-Dimensional Imaging Method: Challenge for High-Resolution Analysis of Structural Change of Biomolecules

利用課題責任者 吉留 崇  
Takashi Yoshidome所属 東北大学 大学院工学研究科 応用物理学専攻  
Affiliation Department of Applied Physics, Tohoku University  
URL <https://researchmap.jp/7000010917/>

邦文抄録(300 字程度)

低温電子顕微鏡実験データから、生体分子の連続的な構造変化をイメージングする「4 次元イメージング法」を確立することを目的とした。4 次元イメージング法の妥当性を示すために、正解の構造変化が既知である低温電子顕微鏡実験を想定したシミュレーションを行った。その際、投影方向は 1 つに固定した。4 次元イメージングを行った結果、正解の構造変化とコンシステントな構造変化を得ることが出来た。

英文抄録(100 words 程度)

In order to establish a four-dimensional imaging method from cryo-electron microscopy data, a simulation for a cryo-electron microscopy experiment of a protein was performed. Projection direction was assumed to be fixed at a certain value. It was found that the structural change of the protein obtained using the four-dimensional imaging method was consistent with the correct structural change.

*Keywords:* 低温電子顕微鏡、4 次元イメージング、マニフォールド理論、分子動力学シミュレーション

## 背景と目的

近年の低温電子顕微鏡実験の技術発展は、これまで X 線結晶構造解析が困難だった生体分子の構造解析を可能にした。これは、X 線結晶構造解析では、生体分子の結晶化が不可欠であるものの、低温電子顕微鏡実験ではそれが不要であるためである。

低温電子顕微鏡実験では、生体分子の結晶化を行わないため、実験データには構造変化に関する情報が含まれている。しかし、現在の低温電子顕微鏡実験データ解析から得られるのは生体分子のある瞬間の構造のみであり、生体分子の構造変化の情報を得る手法は確立されていない。生体分子は体内で活発に動く事でその機能を果たすため、生命現象を理解するには生体分子の構造変化を可視化して、作動原理を解明することが不可欠である。

本プロジェクトでは、生体分子の連続的な構造変化を可視化する「4 次元イメージング法」を確立する事を目指した。我々が提案する 4 次元イメージング構築の手順は、① 生体分子の実験データ(2 次元投影像、「実験投影像」と呼ぶ)をマニフォールド理論(Yoshidome *et al.*, 2015)で構造変化に応じて並べ替

える、② 生体分子の分子動力学(MD)シミュレーションを行い、生体分子の構造サンプリングを行う、③ サンプリングした構造を用いて 2 次元投影像(「計算投影像」と呼ぶ)を作成、④ 実験投影像と相関最大となる計算投影像を選ぶ、⑤ 対応する立体構造を実験投影像の順番に並べ、4 次元イメージングを行う、である。本プロジェクトでは、構造変化の正解が既知である、低温電子顕微鏡実験を想定した計算機実験を行い、本手順で 4 次元イメージングが正しく出来るかを議論した。

## 概要

生体分子として、アデニル酸キナーゼを使用した。このキナーゼは、オープン状態とクローズド状態の 2 状態を有する。まず、実験投影像を作成するために、オープン状態とクローズド状態の MD、並びにオープン状態からクローズド状態への構造変化の Targeted MD を行った。オープン状態とクローズド状態の MD は、Gromacs 2018.5 で行い、Targeted MD は Marble (Ikeguchi, 2014)で行った。温度は 300 K に設定し、力場として charmm22(タンパク質)と TIP3P(水)を用いた。Targeted MD で得られた構造変化が、正解の構

造変化である。次に、文献(Yoshidome & Takano, 2019)に従って実験投影像を作成した。その際、投影方向は 1 つに固定した。最後に、マニフォールド理論を用いて実験投影像を構造変化の順番に並べ替えた。

次に、上記とは別の MD を行い、4 次元イメージングを行うために必要な構造サンプリングを行った。MD にはクローズド構造からリガンドを取り除いたものを使用し、330 K の MD を行った。力場は上記と同じものを使用した。次に、文献(Yoshidome & Takano, 2019)に従って計算投影像を作成した。

その後、独自に実装したプログラムで実験投影像と相関最大となる計算投影像を選び、対応する立体構造を実験投影像の順番に並べた。

### 結果および考察

図 1 に、作成した実験投影像をいくつか示す。水に起因するノイズで画像が乱れていることが分かる。これらの画像をガウシアンローパスフィルタで処理すると、ノイズの中からアデニル酸キナーゼの像が現れた。本研究では、ガウシアンローパスフィルタで処理した後の投影像に対し、マニフォールド理論で並べ替えを行った。

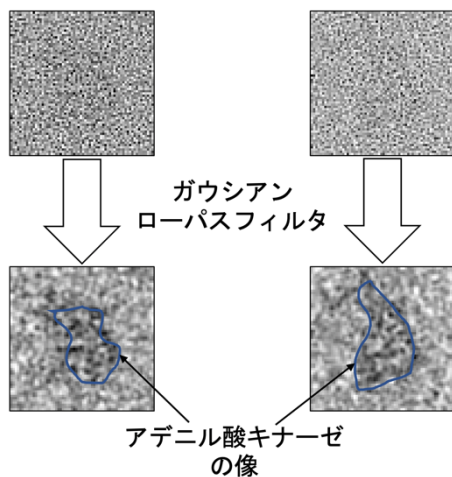


図 1: 作成した実験投影像(上)と、それをローパスフィルタで処理した投影像(下)。

図 2 の横軸に、マニフォールド理論で実験投影像を並べ替えた結果を示す。実験投影像は、図の左側から右側になるにつれて、クローズド構造の投影像からオープン構造の投影像が並んだ。次に、各実験投影像と相関最大の計算投影像を選び、それぞれの投影像の作成に用いた立体構造の間の  $C\alpha$ -RMSD を計算した。

その結果を図 2 の縦軸に示す。ほとんどの実験投影像において、 $C\alpha$ -RMSD の値は 2~3 Å だった。解析の結果、図 2 横軸において、右から左に移動するにつれて、立体構造はオープン状態からクローズド状態に変化しており、この構造変化は Targeted MD の結果とコンシステントだった。この結果は、今回提案する 4 次元イメージングの妥当性を示す。

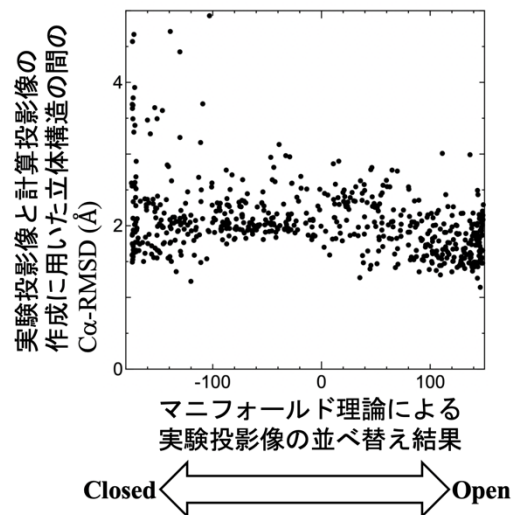


図 2: マニフォールド理論による並べ替え結果(横軸)と、実験投影像と計算投影像の作成に用いた立体構造の間の  $C\alpha$ -RMSD。

### まとめ、今後の課題

本プロジェクトでは、我々が提案する 4 次元イメージング法の妥当性を示すために、低温電子顕微鏡実験を想定したシミュレーションを行った。4 次元イメージングを実際に行った結果、正解の構造変化である Targeted MD の結果とコンシステントな構造変化を得ることが出来た。今後は、実験投影像作成の際の投影方向をランダムにし、より実際の実験に近い状況下での 4 次元イメージングを行う。