

高田 彰二

京都大学大学院理学研究科
教授

高速原子間力顕微鏡1分子計測のデータ同化による
生体分子4次元構造解析法の開発

§ 1. 研究成果の概要

2018 年度も、前年度に引き続き、以下の 6 項目について研究開発を実施した。

- 1) 高速 AFM 静止イメージからの 3 次元構造解析
- 2) 高速 AFM 計測からの直接データ同化
- 3) 高速 AFM 計測からの分子シミュレーションと共役したデータ同化(4 次元構造解析)
- 4) 高速 AFM 装置の高度化
- 5) 高速 AFM 計測とデータ同化法の融合による細胞生物学的課題への応用
- 6) 1分子蛍光イメージングからの細胞内分子動態のベイズ統計モデリング

項目1)では、高速 AFM で得られる静止イメージに対して、適合する 3 次元分子構造モデルをベイズ統計の枠組みによって構築する。本年度、分子構造変形を伴う場合に適用するため、分子動力学(MD)シミュレーションによるフレキシブルフィッティング法を開発し、疑似データによる方法の検証、実データへの適用を達成した。

項目3)では、データ同化の粒子フィルタ法を用いて、疑似高速 AFM 計測と分子シミュレーションのデータ同化のプロトコル作成と検証を行った。まず高速 AFM データに対する粒子フィルタ法を実装した。疑似高速 AFM データを作成したのち、粒子数を 8, 32, 128, 512 として粒子フィルタ計算を実行した(図1)。再現された確率過程は、粒子フィルタの粒子数が多くなるほど観測データとの尤度が大きくなった。さらに粒子フィルタによるパラメータ推定としてイオン強度の推定を試み、観測データと同じイオン強度を推定できることを確認した。

項目4)では、高速 AFM の時空間分解能の向上のために、律速段階のデバイス、Z スキャナー

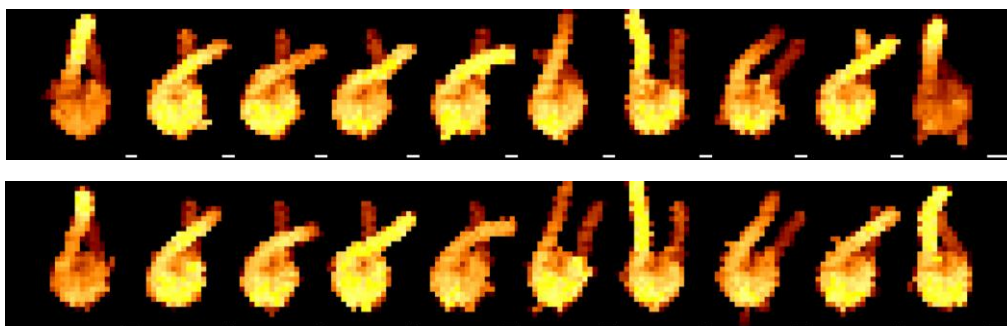


図1：疑似 AFM 計測データ(上段)と粒子フィルタによる再現(下段. 粒子数:512).

の高速化を達成した。ピエゾ素子を小型化することで共振周波数を約 200 kHz から約 470 kHz に、さらに接着法を見直し、ピエゾ素子の底面にある 4 頂点を固定することで約 1300 kHz の共振周波数を達成した。AFM 装置への装着に際し、絶縁性フィルムで被覆することで十分な絶縁性能を確認した。実証テストでは、これまで不可能だった $400 \times 225 \text{ nm}^2$ の範囲を 75ms/frame の走査速度でアクチン線維を破壊せずに観察することができた。

項目5)では、大阪大学の南野・難波研究室との共同研究によって、バクテリアべん毛を作るときに分泌装置として働く FlhA というタンパク質の C 末端側(FlhA_C)の形状を高速 AFM で観察することに成功した(Terahara et al, Science Advances 2018)。FlhA_C は 9 量体のリング構造を持っていること、FlhA_C がリング構造を形成するため、及び、FlhA が分泌するタンパク質を正しく切り替えを行えるためには、FlhA_C のフレキシブルリンカーが必要であることを明らかにした

【代表的な原著論文】

N. Terahara, Y. Inoue, N. Kodera, Y. V. Morimoto, T. Uchihashi, K. Imada, T. Ando, K. Namba and T. Minamino, "Insight into structural remodeling of the FlhA ring responsible for bacterial flagellar type III protein export", *Science Advances*. 4, eaao7054, 2018

§ 2. 研究実施体制

(1) 高田グループ

- ① 研究代表者: 高田 彰二 (京都大学大学院理学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・ 高速 AFM 静止イメージからの 3 次元構造解析
 - ・ 高速 AFM 計測からの直接データ同化
 - ・ 高速 AFM 計測からの分子シミュレーションと共役したデータ同化 (4 次元構造解析)
 - ・ 高速 AFM 計測とデータ同化法の融合による細胞生物学的課題への応用
 - ・ 1 分子蛍光イメージングからの細胞内分子動態のベイズ統計モデリング

(2) 古寺グループ

- ① 主たる共同研究者: 古寺 哲幸 (金沢大学新学術創成研究機構ナノ生命科学研究所 教授)
- ② 研究項目
 - ・ 高速 AFM 計測からの直接データ同化
 - ・ 高速 AFM 計測からの分子シミュレーションと共役したデータ同化 (4 次元構造解析)
 - ・ 高速 AFM 装置の高度化
 - ・ 高速 AFM 計測とデータ同化法の融合による細胞生物学的課題への応用

(3) 枅尾グループ

- ① 主たる共同研究者: 枅尾 豪人 (京都大学大学院理学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・ 高速 AFM 計測とデータ同化法の融合による細胞生物学的課題への応用
 - ・ 1 分子蛍光イメージングからの細胞内分子動態のベイズ統計モデリング