

計測技術と高度情報処理の融合によるインテリジェント計測・解析手法の  
開発と応用

2017年度採択研究代表者

2019年度 実績報告書
-----------------

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

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・画像処理
- 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 で得られた静止像に対して、適合する3次元分子構造モデルを求める方法をベイズ統計の枠組みによって構築した。前年度開発した、分子動力学(MD)シミュレーションによる AFM 像へのフレキシブルフィッティング法の計算パラメータをチューニングし、実際の高速 AFM 像への適用を行った。図1に、細菌鞭毛の輸送システムタンパク質 FlhAc 単量体の AFM 像についてのフレキシブルフィッティングの結果を示す(文献1)。

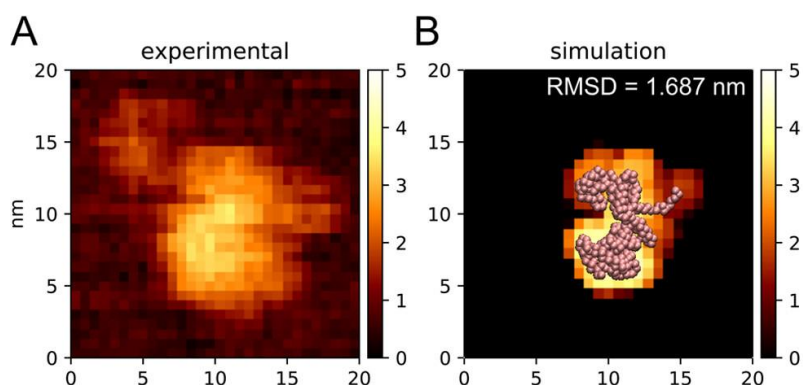


図1 鞭毛輸送システムの FlhAc 単量体の高速 AFM 像(左)とフレキシブルフィッティングによって得られた構造モデル(右)。

項目2)では、高速 AFM 動画を直接データ同化する方法を開発している。走査型顕微鏡である高速 AFM データに含まれる非斉時性(時差)に着目し、データ同化の一種、カルマンフィルタ、カルマン平滑化を適用して非斉時性を解消する方法論を開発した。双子実験、実際の高速 AFM 動画に適用し、カルマン平滑化が非斉時性の問題を減じ、ノイズ除去にも有効な方法であることを示した。

項目3)では、データ同化の一種、粒子フィルタ法によって、高速 AFM 計測と分子シミュレーションのデータ同化を行う方法論を開発した。ヌクレオソーム系の双子実験によって、高速 AFM データと整合性のある、時空間高分解能構造情報が得られることを確認した。また、尤度の比較によって、シミュレーションに含まれるパラメータ値の推定を行い、推定が可能であることを示した。

項目4)では、高速 AFM の時空間分解能の向上のために、顕微鏡装置の高性能化に取り組んだ。昨年度まで開発していた超高速 Z スキャナー(Z-SBと呼ぶ)の性能評価、高速 AFM 実機への導入を行った。共振周波数(高いほど高性能)は、従来型が 150~200 kHz であるが、6~8 倍の約

1200 kHz を実現した。また、高速 AFM 装置の時間分解能を定める Z 方向のフィードバック帯域の最大値は、Z-SB の開発により、従来の約 70 kHz から約 120 kHz への広帯域化が実現された。

項目5)では、細胞骨格であるアクチン線維が Anillin によって束化される現象を高速 AFM で直接観察することに成功した(文献2)(図2)(東大・矢島研との共同研究)。Anillin は、細胞分裂時の収縮リングに局在しアクチン線維を束化するが、その詳細は不明であった。高速 AFM で観察すると、らせん構造をもつアクチン線維が 2 本近接したときに、アクチン線維間を架橋するように Anillin は結合した。

**A Antiparallel 54%**

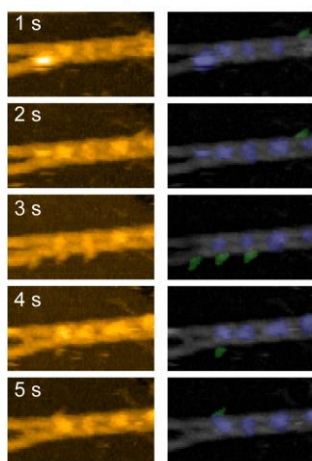


図2 高速 AFM で可視化した Anillin によるアクチン線維の束化 (文献2)

項目6)では、新規購入したプリズム型全反射顕微鏡のセットアップを行い、コンデンシンの DNA 上におけるダイナミクスを観察するために、量子ドットにより蛍光標識したコンデンシンの DNA カーテン観察に成功した。

【代表的な原著論文】

1. Toru Niina, Sotaro Fuchigami, Shoji Takada, "Flexible Fitting of Biomolecular Structures to Atomic Force Microscopy Images via Biased Molecular Simulations", J. Chem. Theory Comput., vol. 16, Issue 2, pp.1349-1358, 2020.

2. Kyohei Matsuda, Mitsuhiro Sugawa, Masahiko Yamagishi, Noriyuki Kodera, Junichiro Yajima, "Visualizing dynamic actin cross-linking processes driven by the actin-binding protein anillin", FEBS Lett., vol. 594, Issue 8, pp.1237-1247, 2019.

## § 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・画像処理
  - ・ 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・画像処理
  - ・ 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) 枳尾グループ

- ① 主たる共同研究者: 枳尾 豪人 (京都大学理学研究科 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