

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

2018 年度採択研究代表者

2020 年度 年次報告書
------------------

光岡 薫

大阪大学 超高压電子顕微鏡センター  
教授

クライオ電子顕微鏡法のベイズ高度化と他計測との融合

## § 1. 研究成果の概要

単粒子クライオ電子顕微鏡法を用いた研究に関しては、V-ATPase の天然で機能している状態の構造解析を進めて、その機能中の複数構造を明らかにし、そのデータを用いて複数構造の時間変化との関係づけを行うことを目標としている。そのような関係づけが容易になるように、構造解析の高分解能化にも取り組んでいる。その結果、全体構造としては 3.6 Å 分解能の構造を得ることができた。また、膜貫通ドメインである Vo についても 3.9 Å 分解能の構造が得られ、それにより、Vo ドメインのみだとプロトン輸送が阻害される V-ATPase の自己阻害機構を提案して発表した。

さらに、DeepLearning を用いたアルゴリズムを検証し、複数構造と構造変化の関係づけが可能であることを示す結果を発表した。加えて、クライオ電子顕微鏡法を中心とした巨大システムに関して調査し、そのシステムの方向性と検討すべき内容について報告した。

クライオ電子線トモグラフィ法を用いた研究については、昨年度に引き続き、さらにデータ収集を進めて再構成中の複合体の数を昨年度から 3 倍程度に増やして達成分解能を 1.7nm から 1.2nm に向上することができた。

DXB(Diffracted X-ray Tracking) および DXB(Diffracted X-ray Blinking)を用いた 1 分子運動計測の実験においては、カプサイシン受容体タンパク質 TRPV1 の活性化時の分子動態を詳細に解析し、TRPV1 が活性化するときの分子のねじれ運動が  $12.8 \text{ pm}^2/\text{ms}$  の拡散定数で動いていることを明らかにした。また生きている細胞内でのセロトニン受容体タンパク質 5-HT<sub>2A</sub> の動体検出に成功すると共に、本技術が有機・無機結晶性化合物の動体計測にも有効であることを、ハロゲン化銀の傾斜運動や生成された銀の格子構造変化を計測することで明らかにした。

## § 2. 研究実施体制

### (1) 光岡グループ

- ① 研究代表者: 光岡 薫 (大阪大学超高压電子顕微鏡センター 教授)
- ② 研究項目
  - ・V-ATPase を用いた単粒子クライオ電子顕微鏡法の高分解能解析技術開発
  - ・V-ATPase を用いた天然状態で機能している構造可視化のためのデータ収集
  - ・単粒子クライオ電子線トモグラフィー法のための高分解能解析技術の検討
  - ・X 線一分子計測など他の計測手法と連携するためのデータ収集検討

### (2) 安永グループ

- ① 主たる共同研究者: 安永 卓生 (九州工業大学大学院情報工学研究院 教授)
- ② 研究項目
  - ・単粒子解析法による 3 次元再構成法のアルゴリズムの開発
  - ・単粒子構造分類のための深層学習を用いた構造分類法の開発
  - ・クライオトモグラフィー法のための高精度撮影法技術の開発

### (3) 三尾グループ

- ① 主たる共同研究者: 三尾 和弘 (産業技術総合研究所先端オペランド計測技術オープンイノベーションラボラトリ ラボチーム長)
- ② 研究項目
  - ・X 線 1 分子追跡法によるイオンチャネルなどの膜タンパク質内部運動のデータ収集と解析
  - ・X 線 1 分子追跡法による実作動環境下(生きている細胞内など)での内部運動データ収集
  - ・クライオ単粒子解析試料作製とデータ収集

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Mechanical inhibition of isolated  $V_o$  from V/A-ATPase for proton conductance”, eLife, vol. 9, e56862, 2020
- 2) “Agonist and Antagonist-Diverted Twisting Motions of a Single TRPV1 Channel”, J Phys Chem B, vol. 124, 11617–11624, 2020
- 3) “X-ray-based living-cell motion analysis of individual serotonin receptors” Biochem Biophys Res Commun, vol. 529, 306–313, 2020
- 4) “Tilting and rotational motions of silver halide crystal with diffracted X-ray blinking”, Sci Rep. vol. 11, 4097, 2021