

細胞の動的・高次構造体
2022 年度採択研究代表者

2022 年度
年次報告書

大出 真央

理化学研究所 開拓研究本部
基礎科学特別研究員

実験と計算の協奏による生体分子動態解析法の開発

研究成果の概要

本年度は現時点での研究計画のうち、

①MD 参照構造を用いた cryoEM 粒子像構造推定(分類)法の確立

②植物蛋白質フィトクロム B(phyB)活性型の構造解析

について研究を進めた。いずれも本研究全体の足がかりとなる項目である。

①については、当初の研究計画に沿って「複数回の独立した三次元構造分類計算に基づいた解析」の方向性で手法開発を行っていたが、テストデータによる検討の結果、当初の方法は実用化に耐えうる性能ではなかった。そのため、別のアプローチによる解析法を検討し、現在はバンドレット問題に立脚して定式化した cryoEM 粒子像解析法の開発を行なっている。定式化における仮定が実際のデータにおいて成立することは確認できており、現在は実装を進めている。

②については、計画当初は非活性型 phyB の構造解析をまず実施する予定であったが、研究開始前に他のグループによって構造が報告された。そのため、次段階の計画であった活性型 phyB の構造解析を前倒しで実施することにした。活性型 phyB は *in vitro* において可逆的な自己凝集を示す性質が研究遂行者の先行研究で報告されている。そのため、凝集を回避するためにグラフェン支持膜を利用した構造解析の条件検討を行なった。乾燥試料による負染色観察では凝集のない単分散な観察像が得られたものの、凍結試料による cryoEM 観察では依然として凝集が認められた。そのため、現在は抗凝集作用が報告されている天然変性蛋白質を添加した条件下での cryoEM 観察を検討している。現在までに、特定種の添加で凝集が軽減される傾向が認められているため、引き続き条件検討を進めていく。