

平成 30 年 5 月 24 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20913

研究課題名(和文) マニフォールド理論と単粒子解析実験データを用いた革新的4次元イメージング法の構築

研究課題名(英文) Construction of an innovative four-dimensional imaging technique using the manifold theory and single-particle experimental data

研究代表者

吉留 崇 (Yoshidome, Takashi)

東北大学・工学研究科・助教

研究者番号：90456830

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者が開発した単粒子解析実験データ分類ソフトウェア「閻魔」を発展させ、単粒子解析実験データから粒子の4次元イメージングを行う手法の開発を行った。(1)実験を想定したシミュレーションデータを用いて、複数の3次元電子密度分布の構築に成功した。(2)現実の実験データに近い、試料氷包埋効果を考慮した2次元投影像セットを作成し、投影像にローパスフィルタを加える事で分類に成功した。(3)酸化銅微粒子の実験データに「閻魔」を適用し、2種類の微粒子成長プロセスが存在する事が分かった。(4)「閻魔」を用いて、物理量を定量的に計算できるマルコフ状態モデルを構築する事に成功した。

研究成果の概要(英文)：Using my software "EMMA" for classifying single-particle experimental data, I developed a four-dimensional imaging technique with single-particle experimental data. The following results were obtained: (i) Using two-dimensional projection images obtained through a simulation for a single-particle experiment, I successfully constructed three-dimensional electron density maps; (ii) Using a Gaussian low-pass filter, I succeeded in classifying the two-dimensional projection images calculated from the sample that particles were embedded in an amorphous ice; (iii) Using two-dimensional projection images of copper oxide nano-cube, I found that there two growing pathways of the cube; and (iv) I successfully constructed a Markov-state model with which accurate computation of physical quantities is possible.

研究分野：生物物理学

キーワード：マニフォールドラーニング 単粒子解析実験 4次元イメージング

1. 研究開始当初の背景

コヒーレント X 線回折イメージング (CXDI) 実験や低温電子顕微鏡実験等の単粒子解析実験の技術発展により、4 次元イメージングの可能性が指摘されるようになった。これは、単粒子解析実験で得られた膨大な量の 2 次元投影像を用いて、複数の 3 次元電子密度分布を構築し、それらを構造変化に応じて並び替えるものである。

これまで、2 次元投影像セットを X 線や電子線の照射方向に対する配向の観点から分類し、3 次元電子密度分布を 1 つ構築していた。しかし、実は粒子ごとに配向だけでなく、粒子の構造も異なっている。従って、(1) 2 次元投影像を配向と粒子の構造の違い (構造多形) の両面から分類し、(2) 3 次元電子密度分布を複数構築し、(3) 構造変化の順に並び変える事により、4 次元イメージングが可能となる。

一方、研究代表者は、X 線自由電子レーザー (XFEL) を用いた CXDI 実験 (XFEL-CXDI 実験) で得られたデータを、構造多形の観点から分類する方法について研究を行ってきた。これまでに提案された K 平均法などの分類法では、何種類に分類するか (クラス数) のインプットが必要である。しかし今回対象とする実験データはクラス数が不明であり、これまでの方法は使えない。そこで、この問題の解決のため、マニフォールド理論に着目し、XFEL-CXDI 実験データ分類ソフトウェア「閻魔」を開発した。このソフトウェアを XFEL-CXDI 実験データを想定したシミュレーションデータに適用した所、クラス数を指定せずにデータ分類することに成功した (T. Yoshidome, T. Oroguchi, M. Nakasako, and M. Ikeguchi, Phys. Rev. E, **92**, 032710 (2015))。

2. 研究の目的

研究代表者の開発したソフトウェア「閻魔」を発展させ、単粒子解析実験データから粒子の 4 次元イメージングを行う手法を確立することが、研究の目的である。

3. 研究の方法

- (1) 計算機上で単粒子解析実験を想定したシミュレーションを行い、試料氷包埋効果やポアソンノイズ等、現実のデータに類似した 2 次元投影像セットを作成する。
- (2) 作成した投影像セットをソフトウェア「閻魔」を用いて、構造多形の観点から分類する。
- (3) 試料氷包埋効果により粒子の形状が見えない場合は、ローパスフィルタを投影像に適用し、形状を明確にしてから分類計算を行う。分類結果と EMC アルゴリズムを用いて、3 次元電子密度分布を複数構築する。

(4) 計算機上で投影像を作成しているため、正解が分かっており、その結果と比較することにより、構築した電子密度分布の妥当性を議論する。

(5) 電子密度分布を並び替え、4 次元イメージングを完成させる。

(6) タンパク質の分子動力学シミュレーションデータに「閻魔」を適用し、マルコフ状態モデルを構築する。構築したマルコフ状態モデルを用いて物理量を計算し、直接シミュレーションから得たものと比較し、定量性を議論する。

4. 研究成果

(1) ソフトウェア「閻魔」と EMC アルゴリズムを用いた複数の 3 次元電子密度分布の再構成

主に 2 状態を有するタンパク質の XFEL-CXDI 実験を想定したシミュレーションを行なった。シミュレーションは以下の手順で行った。まず、分子動力学シミュレーションを行い、それぞれの状態と状態間の構造を多数サンプリングした。その後、それぞれのタンパク質構造をランダムに回転し、2 次元回折パターンを多数作成した。その際、実際の実験で得られる回折パターンの枚数に設定し、ポアソンノイズを加えた。

作成したデータをソフトウェア「閻魔」を用いて分類し、EMC アルゴリズムを用いて 3 次元電子密度分布を複数構築した。シミュレーションに用いた PDB 構造と比較したところ、コンシステンとであった。よって、複数の 3 次元電子密度分布の構築に成功した。

(2) 酸化銅微粒子の XFEL-CXDI 実験データを用いた微粒子成長プロセスの研究

慶應義塾大学の中迫教授から提供された酸化銅微粒子の XFEL-CXDI 実験データにソフトウェア「閻魔」を適用し、微粒子の成長プロセスの解明に挑んだ。そのために、微粒子の 2 次元投影像データセットを「閻魔」で分類した。分類結果を解析したところ、2 種類の成長プロセスが存在する事が分かった。

(3) 試料氷包埋効果を考慮した 2 次元投影像セットの分類

(1) で使用したタンパク質を用いて、低温電子顕微鏡を想定したシミュレーションを行った。この実験では、試料をアモルファス氷に閉じ込める。このため、水に起因するノイズが非常に強く、得られた 2 次元投影像にはタンパク質の像がほとんど映らなかった (図 1)。このデータにソフトウェア「閻魔」を適用したが、分類出

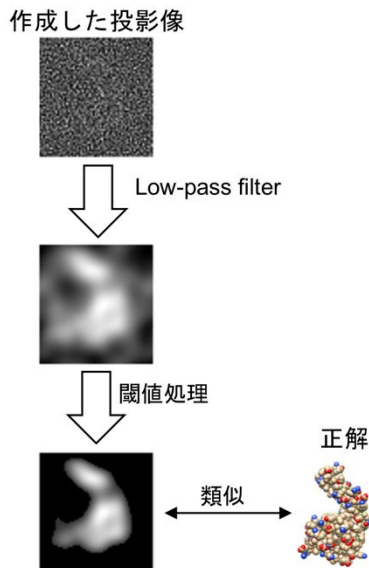


図1. 計算機上で作成した2次元投影像に対し、ローパスフィルター、閾値処理を行った結果。浮かび上がったタンパク質の像は、正解と類似していた。

来なかった。

そこで、投影像にローパスフィルタを適用し、閾値処理を行うことで、粒子の形状を浮かび上がらせた(図1)。浮かび上がったタンパク質の像は、正解のものと同様であった。このデータに対してソフトウェア「閻魔」を適用したところ、構造多型の観点から分類する事に成功した。

(4) 物理量を定量的に計算できるマルコフ状態モデル構築法の開発

ソフトウェア「閻魔」を用いて、シングルドメインタンパク質の分子動力学シミュレーションデータから、マルコフ状態モデルを構築した。タンパク質折り畳みに伴う物理量変化を計算したところ、直接シミュレーションから計算したものと良好に一致した。

さらに、シルエットスコアとK平均法をソフトウェア「閻魔」に導入することにより、定量性の高いマルコフ状態モデルを自動的に構築出来ることが分かった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

Reika Ito and Takashi Yoshidome, "An Accurate Computation of a Physical Quantity of a Protein with a Markov State Model Constructed using a Manifold Learning Technique", Chemical Physics Letters, **691**, 22-27 (2018).

〔学会発表〕(計16件)

吉留 崇, 関口 優希, 山本 隆寛, 荳口 友隆, 中迫 雅由,

「酸化銅微粒子成長プロセスの研究: X線自由電子レーザーとマニフォールドラーニングを用いたアプローチ」, 日本物理学会第73回年次大会, 東京理科大学, 2018年3月23日.

高野 直人, 吉留 崇,

「クライオ電子顕微鏡データ分類のシミュレーションによる研究: マニフォールドラーニングアプローチ」, 日本物理学会第73回年次大会, 東京理科大学, 2018年3月23日.

Reika Ito and Takashi Yoshidome,

"An Accurate Computation of a Physical Quantity of a Protein with a Markov State Model Constructed using a Manifold Learning Technique", The Biophysical Society 62st Annual Meeting, San Francisco, February 21, 2018.

吉留 崇,

「マニフォールドラーニングを用いたコヒーレントX線回折イメージング実験データ分類の研究」,

第7回計算統計物理学研究会(CSP7), 東北大学, 2017年9月25日(招待講演).

伊藤 怜香, 吉留 崇, 「マニフォールドによる分類を用いたマルコフ状態モデルの構築」, 第7回計算統計物理学研究会(CSP7), 東北大学, 2017年9月25日.

高野 直人, 吉留 崇,

「ローパスフィルターを加えた2次元投影像の分類: マニフォールドによるアプローチ」,

第7回計算統計物理学研究会(CSP7), 東北大学, 2017年9月25日.

吉留 崇, 関口 優希, 山本 隆寛, 荳口 友隆, 中迫 雅由, 池口 満徳,

「ソフトウェア「閻魔」を用いたXFEL-CXDI実験データの分類」,

第55回日本生物物理学会年会, 熊本大学, 2017年9月19日.

高野 直人, 吉留 崇, 荳口 友隆, 中迫 雅由,

「マニフォールドラーニングを用いた2次元投影像の分類における試料氷包埋効果のシミュレーションによる研究」,

第17回日本蛋白質科学会年会, 仙台国際センター, 2017年6月21日.

伊藤 怜香, 吉留 崇,

「タンパク質マルコフ状態モデル構築におけるマニフォールドラーニングの必要性」,

第17回日本蛋白質科学会年会, 仙台国際センター, 2017年6月21日.

吉留 崇,

「タンパク質構造エントロピー計算法の研究」,

ソフトマターを中心とした材料科学の

基礎と応用，京都工芸繊維大学，2017年3月21日（招待講演）。

吉留 崇，関口 優希，山本 隆寛，苜口友隆，中迫 雅由，池口 満徳，

「マニフォールドラーニングを用いた銅キューブコヒーレントX線イメージング実験データの分類」，

日本物理学会第72回年次大会，大阪大学，2017年3月19日。

伊藤 怜香，吉留 崇，

「マニフォールドラーニングと分子動力学シミュレーションデータを用いたタンパク質マルコフ状態モデルの構築」，

日本物理学会第72回年次大会，大阪大学，2017年3月19日。

Takashi Yoshidome, Yuki Sekiguchi, Tomotaka Oroguchi, Masayoshi Nakasako, and Mitsunori Ikeguchi,

"Reconstruction of three-dimensional structures of a protein with software ENMA and EMC algorithm: A simulation for XFEL-CXDI experiment",

Biophysical Society 61st Annual Meeting, New Orleans, February 13, 2017.

吉留 崇，関口 優希，山本 隆寛，苜口友隆，中迫 雅由，池口 満徳，

「ソフトウェア「閻魔」を用いた銅キューブのコヒーレントX線回折イメージングデータの分類」，

第30回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム，神戸芸術センター，2017年1月9日。

吉留 崇，関口 優希，苜口 友隆，中迫雅由，池口 満徳，

「ソフトウェア「閻魔」とEMCアルゴリズムを用いたタンパク質3次元電子密度分布の再構成：XFEL-CXDI実験を想定したシミュレーション」，

第54回日本生物物理学会年会，つくば国際会議場，2016年11月25日。

吉留 崇，関口 優希，苜口 友隆，中迫雅由，池口 満徳，

「ソフトウェア「閻魔」を用いたコヒーレントX線回折イメージングデータの分類」，

日本物理学会2016年秋季大会，金沢大学，2016年9月14日。

〔その他〕

ホームページ：

<http://www.geocities.jp/yoshidomet42000/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉留 崇 (YOSHIDOME, Takashi)

東北大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号：90456830