

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07286

研究課題名(和文) ベイズ統計を活用した低解像度構造情報からのモデリング手法の新展開

研究課題名(英文) New approaches for biostructure modeling from low-resolution experimental data

研究代表者

宮下 治 (Miyashita, Osamu)

国立研究開発法人理化学研究所・計算科学研究センター・上級研究員

研究者番号：10620528

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では分子動力学シミュレーションを活用することで低解像度のクライオ電子顕微鏡のデータから詳細な原子構造モデルを構築するフレキシブルフィッティングの手法についての発展を行った。まず、複数のフィッティングを異なるパラメータで試みることでモデリングの結果の精度を評価する手法を確立した。また、モデリングの際に重要である電顕データの立体格子のサイズの見積もりの精密化を行うアルゴリズムを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体分子の構造に関する情報は創薬など応用のために重要であり、クライオ電子顕微鏡はそういった構造情報を得るために盛んに使われている新しい方法である。本研究では分子動力学シミュレーションを活用することにより、低解像度のクライオ電子顕微鏡データから原子レベルの詳細なモデルを構築するための手法、フレキシブルフィッティング、について、よりモデルの精度を高めるための新しいアルゴリズムの開発を行った。

研究成果の概要(英文)：In this research, we have developed new approaches to address some limitations of the flexible fitting method for constructing detailed atomic structure models from low-resolution cryo-electron microscope data by utilizing molecular dynamics simulations. First, we established a method to evaluate the accuracy of resulting models by performing multiple fitting trials with different parameters. In addition, we have developed an algorithm that refines the estimation of the three-dimensional lattice size of electron microscopy data, which is important for accurate modeling.

研究分野：計算構造生物学

キーワード：モデリング シミュレーション クライオ電子顕微鏡

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生体高分子の構造や運動に関する情報はそれらの機能を理解し創薬などに活用するために重要である。X線結晶構造解析は多くの重要なタンパク質の原子構造情報を明らかにしてきたが、重要な生理機能をつかさどる生体分子複合体はその大きさゆえ結晶化が難しく、他の実験手法が活用されてきている。

その一つはクライオ電子顕微鏡(EM)である。この手法では、サンプル内の多量の単粒子の投影画像を観測し、それらの相互関係を解析することで3次元立体構造モデルを構築する。技術の発達により高い解像度の像が得られるようになってきているが、それでも通常得られるデータの解像度は原子レベルには届かない。一方、電子顕微鏡実験ではサンプルを結晶化する必要がなく、より自然に近い構造状態を観測することができるため、X線結晶解析では難しい機能中間状態などの観測に力を発揮する。そのため、複数の実験データとコンピューターシミュレーションを組み合わせて構造モデリングを行う「ハイブリッドアプローチ」が有効である。そこで、知られている原子結晶構造(別の構造状態を表すもの)を活用して、EMデータで捉えられている構造状態に対応する原子構造モデルを作ることが盛んに行われている。代表者らはこのようなハイブリッド手法の開発において先駆的な役割を果たしてきた。

2. 研究の目的

生体高分子の構造や運動を理解するために様々な実験データとコンピューターシミュレーションを組み合わせる「ハイブリッドアプローチ」の必要性が高まっている。本研究では、電子顕微鏡データなどの低解像度モデルから分子力学シミュレーションを用いて構造精密化を行う手法が現在抱えている様々な問題点を克服するための新しい手法を開発する。低解像度データから原子レベルの構造モデルを構築するための統計的な評価関数を用いた新しい手法を開発し、モデリングの際に、実験データをより正しく評価し、また得られた分子構造モデルの正確さの見積を行うことが目的である。

3. 研究の方法

(1) 構造モデルを実験データとの整合性が高くなっていくように分子動力学シミュレーションにより変化させていくフィッティングアルゴリズムを、理研杉田グループの分子シミュレーションプログラム GENESIS に組み込み、さらに拡張アンサンブル法などによりフィッティングの精度を高める手法を実装した。そして、アルゴリズムを実験データに応用し、構造モデルの構築を行った。その際、フィッティングをする際にデータに依存しすぎるオーバーフィッティングの為に、EM実験データから得られた低解像度構造データに含まれている誤差に得られるモデルが影響される問題が顕著であることがわかり、それについて詳しく検討した。

(2) クライオ電子顕微鏡から得られる立体像は3次元格子上のデータとして与えられる。ここで、個々の格子の実際の大きさを指定するパラメーターが分子全体の大きさを決め、モデリングの結果にも影響するのであるが、このパラメーターの見積もりには数%の誤差があることが知られている。そこで、構造モデリングの精度を高めるために、この格子サイズのパラメータについても正確な値を見積もることのできるアルゴリズムを開発した。

4. 研究成果

(1) GENESIS に組み込まれているサンプリング効率化の手法の一つ、レプリカ交換法、を応用することにより、フィッティングを行う際のサンプリングを効率化してより正しいモデルを導き出す手法を開発した。この手法では、フィッティングの際に構造を変化させるバイアス力の強弱を自動的に調節することにより、従来の方法よりも広範囲の構造変化のモデリングを可能にする。

そして、アルゴリズムをいくつかの実験データに応用し、構造モデルの構築を行った。その際、実験データへのフィッティングはモデリングの結果の不確実性が高いことがわかった。これは、実験データに含まれているノイズや3次元再構成の際の誤差によると考えられるノイズがEMマップの中は存在し、モデリングがデータに依存しすぎたことからくるオーバーフィッティングの問題であり、それについて詳しく検討した。フィッティングの際に分子に加える疑似的な力の強さが最終的なモデルに大きく影響することを明らかにし、また、フィッティングも一意的ではなく結果にばらつきが出ることを確認した。そこで、解決策として、多数のフィッティングを行い、それらの中から、構造の質を評価することで、実験データを再現しつつ、構造的に正しいと考えられるモデルを提案する方法を確立した。

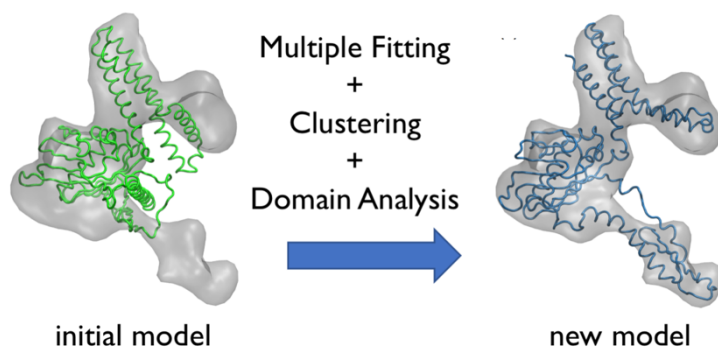


図1：新しく拡張したフィッティングの手法によるモデリングの例。従来は難しかったモデリングが、多数のトライアルによるモデルの作成、クラスタリング、構造の評価の手続きを踏むことにより可能になった。

(2) クライオ電子顕微鏡から得られる立体像は 3 次元格子上的データとして与えられる。ここで、個々の格子の実際の大きさを指定するパラメーターが分子全体の大きさを決め、モデリングの結果にも影響する。そこで、構造モデリングの精度を高めるために、この格子サイズのパラメータについても正確な値を見積もることのできるアルゴリズムを開発した。このアルゴリズムでは、格子サイズを変えた多数の EM マップを作成し、それらにフィッティングを行うことで多数のモデルを構築する。そして、それら個々の構造の「質」を評価することで正しい格子サイズを推定する。ここで、得られた構造の「質」を評価するためにはフィッティングとは独立したアルゴリズムが必要になる。シミュレーションで作成したマップによりアルゴリズムのテストを行い、「質」を評価する為の様々な指標を探索した。まず、構造とマップの一致度を測る一般的な相関係数(correlation coefficient)は精度が不十分であることを示した。また、一般的に X 線結晶構造モデルの評価に用いられる指標 Molprobity は原子間距離の評価に物理化学的な要素がないことから不十分であることも分かった。最後に、タンパク質構造予測に使われている指標 GOAP が、タンパク質内の局所構造や原子間距離の評価を詳細に行い、構造の「質」を評価するのに有効であることを見出した。また、開発したアルゴリズムの中で活用する、モデルを作る際の構造精密化アルゴリズムの運用に関するパラメータなどを確立した。開発したアルゴリズムを実験データにも応用し、論文を発表した。

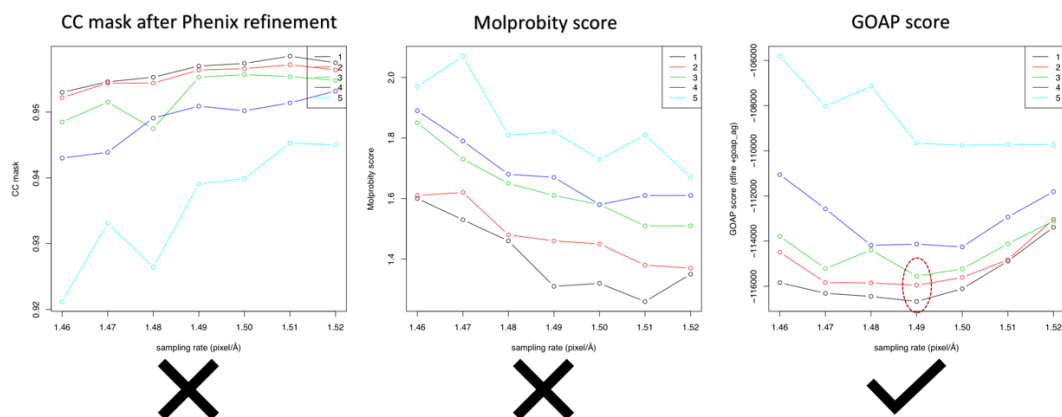


図2：立体格子のサイズを変化 (X 軸) させて多数のモデリングを行い、それらの構造の正しさをいくつかの指標で評価した (相関係数 CC、Molprobity score、GOAP score) と、GOAP score が正しい立体格子サイズに基づく構造モデル (丸) をもっとも正しいと特定することができることが分かった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Tiwari Sandhya P., Chhabra Sahil, Tama Florence, Miyashita Osamu	4. 巻 -
2. 論文標題 Computational Protocol for Assessing the Optimal Pixel Size to Improve the Accuracy of Single-particle Cryo-electron Microscopy Maps	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Information and Modeling	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b01107	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Srivastava Ashutosh, Tiwari Sandhya Premnath, Miyashita Osamu, Tama Florence	4. 巻 432
2. 論文標題 Integrative/Hybrid Modeling Approaches for Studying Biomolecules	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 2846 ~ 2860
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.jmb.2020.01.039	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Dasgupta Bhaskar, Miyashita Osamu, Tama Florence	4. 巻 1864
2. 論文標題 Reconstruction of low-resolution molecular structures from simulated atomic force microscopy images	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 129420 ~ 129420
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2019.129420	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mori Takaharu, Kulik Marta, Miyashita Osamu, Jung Jaewoon, Tama Florence, Sugita Yuji	4. 巻 27
2. 論文標題 Acceleration of cryo-EM Flexible Fitting for Large Biomolecular Systems by Efficient Space Partitioning	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Structure	6. 最初と最後の頁 161 ~ 174.e3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1016/j.str.2018.09.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tiwari Sandhya P., Tama Florence, Miyashita Osamu	4. 巻 19
2. 論文標題 Searching for 3D structural models from a library of biological shapes using a few 2D experimental images	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BMC Bioinformatics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1186/s12859-018-2358-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Srivastava Ashutosh, Nagai Tetsuro, Srivastava Arpita, Miyashita Osamu, Tama Florence	4. 巻 19
2. 論文標題 Role of Computational Methods in Going beyond X-ray Crystallography to Explore Protein Structure and Dynamics	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3401 ~ 3401
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.3390/ijms19113401	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nagai Tetsuro, Mochizuki Yuki, Joti Yasumasa, Tama Florence, Miyashita Osamu	4. 巻 26
2. 論文標題 Gaussian mixture model for coarse-grained modeling from XFEL	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Optics Express	6. 最初と最後の頁 26734 ~ 26734
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1364/OE.26.026734	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakano, M., Miyashita, O., Jonic, S., Tokuhisa, A. & Tama, F.	4. 巻 25
2. 論文標題 1.Single-particle XFEL 3D reconstruction of ribosome-size particles based on Fourier slice matching: requirements to reach subnanometer resolution	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Synchrotron Rad.	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1107/S1600577518005568	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Osamu Miyashita, Chigusa Kobayashi, Takaharu Mori, Yuji Sugita and Florence Tama	4. 巻 38
2. 論文標題 Flexible fitting to cryo-EM density map using ensemble molecular dynamics simulations	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Comput Chem	6. 最初と最後の頁 1447-1461
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcc.24785	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 宮下 治, タマ フロハンス	4. 巻 57
2. 論文標題 構造解析へのハイブリッドアプローチ：電子顕微鏡とX線自由電子レーザーからの実験データの活用	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 生物物理	6. 最初と最後の頁 90-94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophys.57.090	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ahlstrom LS, Vorontsov II, Shi J, Miyashita O.	4. 巻 12
2. 論文標題 Effect of the Crystal Environment on Side-Chain Conformational Dynamics in Cyanovirin-N Investigated through Crystal and Solution Molecular Dynamics Simulations	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0170337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0170337	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 16件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 宮下治
2. 発表標題 Reconstruction of Low-resolution (Bio) Molecular Structures from Simulated Atomic Force Microscopy Images
3. 学会等名 The 1st International Conference on Big Data and Machine Learning in Microscopy (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮下治
2. 発表標題 クライオEMデータを活用した生体分子ハイブリッド構造モデリング
3. 学会等名 近畿化学協会コンピュータ化学部会 公開講演会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮下治
2. 発表標題 Hybrid Approach for Structural Biology: Simulation and Experimental Data
3. 学会等名 CBI 学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮下治
2. 発表標題 Hybrid Structure Modeling of Biomolecules from Cryo-EM Data
3. 学会等名 日本顕微鏡学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮下治
2. 発表標題 Hybrid Approach for Biomolecular Structure Modeling
3. 学会等名 2nd R-CCS international symposium (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮下治
2. 発表標題 XFEL単粒子実験データ解析アルゴリズムの開発
3. 学会等名 PCXSS Workshop (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮下治
2. 発表標題 構造解析へのハイブリッドアプローチ：電子顕微鏡とX線結晶解析実験データの活用
3. 学会等名 日本結晶学会 2018年度年会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮下治
2. 発表標題 構造解析へのハイブリッドアプローチ：電子顕微鏡とX線自由電子レーザーからの実験データの活用
3. 学会等名 第 1 回水和ナノ構造研究会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮下治
2. 発表標題 XFEL単粒子観測実験データ解析アルゴリズムの開発
3. 学会等名 放射光学会若手研究会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Osamu Miyashita
2. 発表標題 Dynamics hidden within X-ray crystallographic data
3. 学会等名 Telluride Workshop: Coarse-Grained Modeling of Structure and Dynamics of Biomacromolecules (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Osamu Miyashita
2. 発表標題 Cryo-cooling effect on DHFR crystal studied by replica-exchange molecular dynamics simulations
3. 学会等名 BioXFEL International Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮下治
2. 発表標題 Computational Structure Modeling from Cryo-EM Data
3. 学会等名 Dynamic Structural Biology Symposium (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 宮下治
2. 発表標題 構造解析へのハイブリッドアプローチ : 電子顕微鏡とX線自由電子レーザーからの実験データの活用
3. 学会等名 第4回 大型実験施設とスーパーコンピュータとの連携利用シンポジウム - 生体物質のダイナミクス - (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 宮下治
2. 発表標題 XFEL単粒子実験データ解析アルゴリズムの開発
3. 学会等名 PCXSS Workshop (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 宮下治
2. 発表標題 計算構造生物学による生体超分子構造解析
3. 学会等名 クライオ電顕解析における情報解析技術ワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮下治
2. 発表標題 計算機シミュレーションと実験データの融合利用
3. 学会等名 XFEL構造生物ミーティング (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 宮下治
2. 発表標題 Structure Modeling from Cryo-EM Data using Flexible Fitting Approach
3. 学会等名 日本生物物理学会 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 宮下治
2. 発表標題 電子顕微鏡データを活用した構造解析へのハイブリッドアプローチ
3. 学会等名 理研シンポジウム「クライオ電顕に期待すること」(招待講演)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Osamu Miyashita, Florence Tama	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 19
3. 書名 Hybrid Methods for Macromolecular Modeling by Molecular Mechanics Simulations with Experimental Data	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----