

# クライオ電子顕微鏡最前線

## Frontier of Cryo-Electron Microscopy

第 79 回応用物理学会秋季学術講演会分科企画シンポジウム

2018 年 9 月 20 日(木) 13:30~16:20

世話人：西竜治(大阪大学)、谷口淳(東京理科大学)、  
光岡薫(大阪大学)、臼井博明(東京農工大学)

本シンポジウムは、2017 年にノーベル賞を受賞したこともあって広く一般にも知られるようになったクライオ電子顕微鏡法をキーワードに「日本学術振興会荷電粒子ビームの工業への応用第 132 委員会」との共催で開催した。

めざましい進歩を遂げているクライオ電子顕微鏡法は生体分子の立体構造解析の新しい手法として重要な技術となっている。クライオ電子顕微鏡法の最新技術や最新の構造解析の成果を 5 人の先生方に招待講演をして頂いた。

クライオ電子顕微鏡の分解能は 2013 年を境に X 線構造解析や NMR といった構造解析手法と並ぶまでに向上した。その最大の要因として、電子を直接検出するダイレクトデテクタによる高感度の(すなわち少ない電子線量での)画像取得が可能となったことが挙げられる。タンパク質溶液を急速凍結し、多数の電子顕微鏡写真を撮影、単粒子解析法と組み合わせ、数 nm サイズのタンパク質の三次元構造を高い分解能で解析できる。分解能の向上により解析対象とする構造は広がりつつある。最近では 2 Å より微細な構造も解かれるようになっている。

世界最初のクライオ電子顕微鏡は国産メーカーである日本電子(株)から発表されたが、現在ほとんどのクライオ電子顕微鏡の分解能記録は海外メーカーに占められている。大阪大学の加藤貴之先生らのグループは、日本電子(株)との共同開発により、市販装置の中で最高分解能である 200kV ショットキー FEG の JEM-ARM200 をベースに、クライオ液体窒素の自動供給が可能な自動試料交換装置、単粒子像解析用に特化したクライオボールピース、コントラスト改善を行うための  $\Omega$  型エネルギーフィルターを搭載することにより、分解能を向上させた。 $\beta$ -galactosidase をテストサンプルとして、自動データ撮影ソフト JADAS を使い 3 日で 2,500 枚の画像を撮影し、合計 88,000 粒子の分子像から、Relion を使って構造解析を行い、分解能 2.45Å での構造解析に成功した。200kV 電子顕微鏡として CRYO ARM200 が世界トップクラスの高分解能解析が可能であることを実証した。

生命エネルギーの通貨というべき ATP の大部分を作る ATP 合成酵素は、生体膜間の電気化学ポテンシャルと ATP 合成という吸エルゴン反応をエネルギー共役させる分子機械である。クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析により V 型 ATP 合成酵素



の回転状態に対応した3つの構造が京都産業大学の横山謙先生らのグループにより明らかにされた。このような構造解析には5000枚にもおよぶ画像を撮影し、そこから50万個程度の単粒子を抽出し、2次元平均化処理、クラス分けを行うといった膨大な処理が必要である。

多細胞生物に存在する細胞間コミュニケーションチャンネルであるギャップ結合チャンネルを構成するタンパク質には2つの遺伝子ファミリーが存在し、脊椎動物を含む脊索動物に存在するコネキシンと無脊椎動物が持つイネキシンがある。イネキシンでは線虫の持つinnexin-6 (INX-6)の16量体構造とそれに次ぐINX-6の原子モデルが明らかとなっている。これらの構造研究にはX線や電子線を用いた結晶構造解析や、クライオ電子顕微鏡による単粒子解析といった手法が利用されてきた。今回はINX-6とCx26のギャップ結合チャンネルの構造を比較しながら、2種類のギャップ結合チャンネルに共通した構造と多様性を名古屋大学の大島篤典先生に紹介いただいた。

アクチン線維はモーターとしての活性を持つが、そこに重要な働きをしているのがコフィリンという蛋白質である。名古屋大学の成田哲博先生らのグループは3.8Å分解能のコフィリン結合アクチン線維像をクライオ電子顕微鏡法で決定した。さらに、タンパク質の動きを止めて観察する手法として、フォトカソードから出るパルス電子により画像を作るパルス電子顕微鏡の開発を進めている。

走査透過電子顕微鏡法(Scanning Transmission Electron Microscopy: STEM)は細く絞った電子ビームで試料上を走査し、試料を透過した電子を大面積の検出器で捉えるため、透過電子顕微鏡法(TEM)に対して様々な優位な点がある。厚い試料に対しても結像レンズの色収差の影響が抑えられる、トモグラフィー撮影時に試料を傾斜する際に試料の場所ごとにフォーカスを調整するダイナミックフォーカス、環状検出器による暗視野撮影(Annular Dark Field: ADF)によるコントラストの向上、などの利点がある。これをクライオ電子顕微鏡法に応用し、トモグラフィー撮影についてサーモフィッシャーサイエントフィック・大阪大学の青山一弘先生に紹介いただいた。

最後にご多忙な中、招待講演をお引き受け頂いた先生方に感謝申し上げます。

## ■ 講演プログラム

1. 最新クライオ電子顕微鏡による構造解析  
○加藤 貴之 1、寺原 直矢 1、難波 啓一 1,2 (1.阪大生命、2.理研 Spring-8)
2. クライオ電子顕微鏡で明らかになった ATP 合成酵素の形と動き  
中西 温子 1、岸川 淳一 1、光岡 薫 2、○横山 謙 1 (1.京産大総合生命、2.阪大超高压電顕セ)
3. クライオ電子顕微鏡を用いたギャップ結合チャンネルの構造研究  
○大嶋 篤典 1,2 (1.名大 CeSPI、2.名大創薬)
4. アクチン線維構造解析と新しい電子顕微鏡法  
○成田 哲博 1 (1.名大理)
5. クライオ STEM トモグラフィーによる細胞レベルの3D構造解析  
○青山 一弘 1,2 (1.サーモフィッシャー、2.阪大超高压)