

電顕構造解析の現状と相関構造解析

宮崎直幸, 岩崎憲治
大阪大学蛋白質研究所

クライオ電子顕微鏡の技術は、ハードウェア・ソフトウェアの両面で近年飛躍的に向上してきている。特に、単粒子構造解析では、1997年にB型肝炎ウイルスのコア様粒子の構造が7.4 Å分解能で決定され[1]、タンパク質の2次構造やフォールディングが可視化できることが示された。その後、急速に発展し、直径数10 nmの巨大なウイルスに関しては、2008年に3.88 Å分解能でCytoplasmic polyhedrosis virusの構造が、2010年に3.3 Å分解能でAquareovirusの構造が決定され、原子モデルの構築が可能となった[2-3]。そして、電子直接検出カメラの実用化やベイズ統計を導入した解析法が開発され、2013年には直径10~15 nm程度のTRP1V (Transient receptor potential channel)の構造が3.4 Å分解能で決定された[4]。最近では、分子量100 kDa以下のタンパク質の原子構造までもが、クライオ電子顕微鏡単粒子構造解析法を使って決定できるようになってきている[5]。今後も、ハードウェアでは、位相板、収差補正機、Cold-FEGなどの導入や、ソフトウェアでは、GPGPUによる高速演算処理等により、この分野のさらなる発展が見込まれている。大阪大学蛋白質研究所では、現在2台のクライオ電子顕微鏡が可動している。1台は、電子カウンティング機能の付いた最先端電子直接検出カメラが組み込まれている装置で、もう1台は、4月より可動し始めた最先端クライオ電子顕微鏡で、位相板、収差補正機が組み込まれている装置になる。我々は、これら2台のクライオ電子顕微鏡を用いて積極的に共同研究を進めており、原子分解能での構造解析も可能となってきた。本公演では、我々の取り組みも含めて最近のクライオ電顕単粒子構造解析の現状を紹介したい。

一方で、X線やNMRによる構造解析や電顕単粒子構造解析が困難な試料に対しては、複数の構造解析を相補的に組み合わせた相関構造解析が威力を発揮する。例えば、X線結晶構造解析等により得た分子の詳細な部分構造と電顕イメージングにより得た分子全体構造を組み合わせる場合や、電子線トモグラフィーによる数nm分解能の細胞内での分子会合構造とX線結晶構造解析による分子単体の原子構造を組み合わせるような場合が想定される。生命現象をきちんと理解するには、そのように単一の手法だけでなく複数の手法を上手く組み合わせることで調べるのが重要となってくる。この相関構造解析についても、我々の成果も含めていくつか紹介したい[6-7]。

[1] B. Böttcher, S.A. Wynne, R.A. Crowther, *Nature* 386, 88-91 (1997).

[2] X Yu, L Jin, Z.H. Zhou, *Nature* 453, 415-419 (2008).

[3] X Zhang, L Jin, Q Fang, W.H. Hui, Z.H. Zhou, *Cell* 141, 472-482 (2010).

[4] M Liao, E Cao, D Julius, Y Cheng, *Nature* 504, 107-112 (2013).

[5] A Merk et al., *Cell* 165, 1-10 (2016).

[6] H Tanaka, N Miyazaki, K Matoba, T Nogi, K Iwasaki, J Takagi, *Cell Rep* 2, 101-110 (2012).

[7] Y Tsukasaki, N Miyazaki, A Matsumoto, S Nagae, S Yonemura, T Tanoue, K Iwasaki, M Takeichi, *PNAS* 111, 16011-16016 (2014).