

# クライオ電顕構造解析パイプラインの開発

守屋 俊夫

高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所・構造生物学研究センター

分子レベルの生命活動において主要な役割を果たすタンパク質（および、その複合体）などの生体高分子の三次元構造を決定することは、その生理学的・作用機序の理解のみならず、創薬にも貴重な情報を提供する。その立体構造決定ではこれまで放射光X線を用いた手法が主流であったが、近年では結晶化の難しいタンパク質複合体等の近原子分解能構造の決定が可能になってきたクライオ電顕（クライオ電子顕微鏡法）も加えて多く用いられるようになってきた。

X線結晶学とクライオ電顕の特徴には多くの違いがあるものの、コンピューターによる計算処理の観点から見て重要なのは、クライオ電顕は画像処理へビーな手法であるということである。これは、精製度や構造多形等の問題を試料準備段階で全て解決するのではなく、画像処理で解決できる可能性があることを意味する。しかし、その計算処理パイプラインはいまだ発展途上にある。近原子分解能の構造を決定するためには、デジタル精製、パイプラインとそのパラメータの最適化の多くをユーザー自身がこれまでの解析経験に基づいて行う必要がある。同時に、再構築結果がクライオ電顕の「ピットホール」として知られる人工的な構造ではなく真の構造であることを判断しなければならない。さらに、構造多形や対称性が混ざったデータセットの解析等の「難しいプロジェクト」は、より高度なアルゴリズムを組み合わせた複雑なパイプラインを駆使しなければ近分解能を達成できないことが多い。

このようなクライオ電顕計算処理の現状を踏まえると、SPHIRE/EMAN2、RELION、cryoSPARC、cisTEM等、クライオ電顕ソフトウェアパッケージの特徴と違いを理解することは構造解析を進める上で非常に有益である。この知識に基づき、対象タンパク質に最適なアルゴリズムの組み合わせと順序を選択することにより、最適な計算処理パイプラインをデザインすることができる。しかし、将来的にはパイプラインの全自動化を実現することで、ユーザーにこれらの負担を強いらぬことが構造生物学の発展のために必須である。そのためには、人の認識能力と経験側に頼った解析手順をアルゴリズム化しなければならない。また、より高い分解能構造をより安定して決定するためには、低中分解能では定数として扱っても問題のなかったマイクログラフ毎のディフォーカスなどのパラメータの推定など、これまで利用していた前提条件を見直す必要がある。このようにクライオ電顕構造解析パイプラインの開発にはいまだ多くの改善の余地がある。