

クライオ電子顕微鏡研究の歴史

村田和義

自然科学研究機構 生理学研究所

クライオ電顕の歴史は、まさに昨年度ノーベル化学賞を受賞した3氏、Jacques Dubochet、Richard Henderson、Joachim Frankの功績に見ることができる。

J. Dubochetは、当時、水を含んだ生体試料を高真空の電子顕微鏡中で安定に支持する方法を研究していた。そこで彼が思いついたのは、膜穴グリッドに試料溶液をのせて、溶液が乾ききる前に急速凍結させるというものである。そして、凍結グリッドを凍ったまま高真空の電子顕微鏡の中に入れて観察する。今日の氷包埋法の発明である。彼は比較的大きく対称性の高いウイルス粒子を使ってこの方法の有効性を示した(1)。

R. Hendersonは、電子線を使ってタンパク質の構造解析を可能にするための条件を研究していた。電子線は照射ダメージがX線やその他の量子線に比べて桁違いに高いため、軽原子からなるタンパク質分子を十分なS/Nで画像化することは原理的に不可能であった。そこで彼が最初に取り込んだのは、紫膜の構造解析である。紫膜は膜タンパク質バクテリオロドプシンが膜内で配向した天然のタンパク質二次元結晶である。R. Hendersonは、紫膜を用いた電子線回折像の解析から、電子顕微鏡でタンパク質の構造解析ができることを世界で初めて示した(2)。

J. Frankは、二次元結晶を用いずにタンパク質粒子そのものの画像から構造解析を行う単粒子解析の手法を考案した。単粒子解析は、向きの異なるタンパク質粒子の投影像を集めて、そこから元の三次元構造を復元する方法である(3)。彼はそのために、大きくて対称性を持たないリボソームを研究に用いた。

クライオ電子顕微鏡法は、主としてこれら3氏の独立した研究が巧みに組み合わせられて完成した手法である。しかし、この手法を用いたタンパク質単粒子構造解析のためには克服できない壁が最後に残された。それは、照射ダメージを抑えたS/Nの悪い個々の投影像中から目的の粒子を抽出し、正確にその向きを決めないといけないことであった。この難題を克服したのが、近年開発されたカメラの技術と解析手法である。電子顕微鏡では、電子線の照射直後に帯電した試料が画像上で動くという問題(Beam induced movement)があり、これがタンパク質粒子像の解像度を制限していた。これに対して近年開発された電子直接検出カメラは、フレーム分割して画像を記録し、後でフレーム間のドリフト補正を行うことで解像度の高い画像の取得を可能にした。また、ベイズ推計を応用した最尤法(Maximum likelihood estimation)は、S/Nの低い個々の画像から効率よく元の画像を復元することを可能にした。これらのブレークスルーが最後に加わることによって、ノーベル化学賞に選ばれた「クライオ電子顕微鏡法によるタンパク質の構造解析」が達成された(4)。

文献: 1) M. Adrian, et al., *Nature*, **308**, 32 (1984)

2) Henderson, R., et al., *J. Mol. Biol.* **213**, 899 (1990)

3) J. Frank, "Three-dimensional Electron Microscopy of Macromolecular Assemblies", Oxford university Press (2006)

4) 宋 致弘, 村田 和義 *J. Comput. Chem. Japan* **17**(1), P.38-45 (2018)