

計測技術と高度情報処理の融合によるインテリジェント計測・解析手法の  
開発と応用

2018 年度採択研究代表者

2021 年度 年次報告書
------------------

光岡 薫

大阪大学 超高圧電子顕微鏡センター  
教授

クライオ電子顕微鏡法のベイズ高度化と他計測との融合

## § 1. 研究成果の概要

単粒子解析における、投影角方向のサンプリングの影響を受けにくい、新規3次元構造再構成法の提案とツールの開発を行い、その評価を行った。その結果、既存の方法と同程度の分解能が得られると共に、特定の角度に集中するなどのアーティファクトがでにくいことが示された。

また、膜タンパク質である NDH-II が結合した呼吸鎖拡張型超複合体に対して単粒子解析法を適用し、NDH-II の結合可能性を示した構造を報告した。加えて、電子顕微鏡法による静電ポテンシャルマップの意味を示すために、電子線回折法による構造解析法において、量子化学計算による静電ポテンシャルマップとの比較を行い、電子密度マップよりもR因子を下げることに成功している。

さらに、最新の電子直接検出カメラを用いた単粒子解析法のためのデータ収集の高速化に取り組んだ。それにより、ステージを移動することなく複数領域を撮影することができ、さらに複数領域の撮影でコマ収差がほぼ変化しない画像を収集できるシステムを導入し、十倍以上の高速化を実現した。加えて、電子線トモグラフィ法のための傾斜像シリーズ撮影の高速化のために、傾斜像シリーズを各傾斜角毎に撮影するのではなく、シャッターを開けたままの状態に傾斜させながら高速に傾斜像シリーズを収集するシステムも導入した。

DXT (diffracted X-ray tracking) /DXB (diffracted X-ray blinking) 技術を生きている細胞上でのタンパク質の分子内部運動解析に適用した。セロトニン受容体 5-HT<sub>2A</sub> の活性制御メカニズムと、ナチュラルキラー細胞上でのインターロイキン受容体の情報伝達メカニズムの解明に重要な知見を得ることができ、広く応用可能な技術であることを示すことができた(実作動環境下でのオペランド分子動態解析)。

## § 2. 研究実施体制

### (1) 光岡グループ

- ① 研究代表者: 光岡 薫 (大阪大学 超高压電子顕微鏡センター 教授)
- ② 研究項目
  - ・単粒子クライオ電子顕微鏡法のためのデータ収集高度化技術開発
  - ・V-ATPase を用いた天然状態で機能している構造可視化のためのデータ解析手法開発
  - ・クライオ電子線トモグラフィー法のためのデータ収集高度化技術開発
  - ・X 線一分子計測など他の計測手法と連携するための構造データ収集

### (2) 安永グループ

- ① 主たる共同研究者: 安永 卓生 (九州工業大学 大学院情報工学研究院 教授)
- ② 研究項目
  - ・単粒子解析法による 3 次元再構成法のアルゴリズムの開発
  - ・単粒子構造分類のための深層学習を用いた構造分類法の開発
  - ・電子線回折法による構造解析のためのアルゴリズム開発

### (3) 三尾グループ

- ① 主たる共同研究者: 三尾 和弘 (産業技術総合研究所 先端オペランド計測技術オープンイノベーションラボラトリ ラボチーム長)
- ② 研究項目
  - ・X 線 1 分子追跡法によるイオンチャネルなどの膜タンパク質内部運動のデータ収集と解析
  - ・X 線 1 分子追跡法による実作動環境下(生きている細胞内など)での内部運動データ収集
  - ・クライオ単粒子解析試料作製とデータ収集

### 【代表的な原著論文情報】

- 1) “Development of Automated-to-Autonomous Cryo-Electron Microscopy as a System of Systems”, KENBIKYO (The Japanese Society of Microscopy), vol. 56 No. 1, pp.43-47, 2021
- 2) “Extended supercomplex contains type-II NADH dehydrogenase, cytochrome bcc complex, and aa3 oxidase in the respiratory chain of *Corynebacterium glutamicum*”, Journal of Bioscience and Bioengineering vol. 133 No. 1, pp.76-82
- 3) “Living-Cell Diffracted X-ray Tracking Analysis Confirmed Internal Salt Bridge Is Critical for Ligand-Induced Twisting Motion of Serotonin Receptors”, Int J Mol Sci, vol. 22, No. 10, pp.5285, 2021
- 4) “Diffracted X-ray blinking measurements of interleukin 15 receptors in the inner/outer membrane of living NK cells” Biochem Biophys Res Commun, vol. 556, pp.53-58, 2021
- 5) “Laboratory diffracted x-ray blinking to monitor picometer motions of protein molecules and application to crystalline materials”, Struct Dyn, vol. 8, No. 4, 044302, 2021