

生体試料構造解析のためのクライオ電子顕微鏡法の現況と 将来展望に関する調査研究

(NPO) 総合画像研究支援 正会員 光岡 薫

1. 研究代表者

光岡 薫 (53 歳) 大阪大学 超高压電子顕微鏡センター 教授

2. 共同調査研究者

青山 一弘、臼倉 治郎、大隅 正子、吉川 雅英、宮澤 淳夫、村田 和義、諸根 信弘、安永 卓生、山科 正平

3. 研究期間

平成 30 年 10 月 1 日より令和元年 9 月 30 日まで

4. 研究の目的

最近、電子直接検出カメラが開発され、クライオ電子顕微鏡法による生体高分子構造解析の分解能が著しく向上した。そのため、従来は X 線結晶構造解析などに取り組んできた構造生物学の研究者らのクライオ電子顕微鏡利用が盛んになってきている。そこで、そのようなクライオ電子顕微鏡を利用した研究の現状と、その中での日本の研究状況に関する調査を行い、その研究の将来展望を示すことを目的に調査研究を実施した。そのような将来展望を明らかにすることは、若手研究者のこの分野への参入を促進し、日本でのクライオ電子顕微鏡研究を一層発展させることに寄与すると考えている。

5. 研究の背景

クライオ電子顕微鏡（電顕）法は、電子直接検出カメラの開発やベイス推定を利用した画像解析法の利用、クライオ電顕のコンピュータ制御による自動データ収集などにより、最近、生体高分子の高分解能構造解析の一つの手法として確立しつつある。この高分解能構造解析手法を単粒子クライオ電顕法と呼ぶ。

単粒子クライオ電顕法以外にも、クライオ電顕は利用されている。例えば、細胞のような形態がそれぞれ異なるものの立体構造を観察するためには、電子線トモグラフィ法が利用されている。本調査研究では、このようなクライオ電顕が利用されている様々な分野に分類して、その研究状況を明らかにし、日本の状況についても示す。

最近注目され利用が進んでいるクライオ電顕法であるが、そこでの日本の存在感は低下しているように思われる。単粒子クライオ電顕法の成果は創薬などに直結することで注目され、現在は日本医療研究開発機構（AMED）の創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム（BINDS）などによりクライオ電顕の共用利用プラットフォームが整備されつつあるが、まだ世界的には遅れているように思われる。そこで、クライオ電顕を利用した研究を促進するため、クライオ電顕の共用利用ネットワークの在り方についても検討する。

6. 調査研究の方法

本調査研究では、1)アンケート立案などのための調査研究者会議、2)主に電顕の専門家を対象としたアンケート調査の実施、3)専門学会などでのシンポジウムなどの開催、4)電顕以外の専門学会調査、5)クライオ電顕共用利用に関する訪問調査、6)Protein Data Bank (PDB) や Pubmed の学術データベース調査を行った。

以下にその調査日程を示す。

2018年11月10日	第1回調査研究者会議
2019年3月2日	第2回調査研究者会議
2019年6月8日	第1回アンケート調査 (IIRS 第19回アカデミックサロン)
2019年6月19日	第2回アンケート調査 (日本顕微鏡学会第75回学術講演会)
2019年9月15日	イギリスでの聞き取り調査
2019年9月24～26日	専門学会調査 (日本生物物理学会第57回年会)

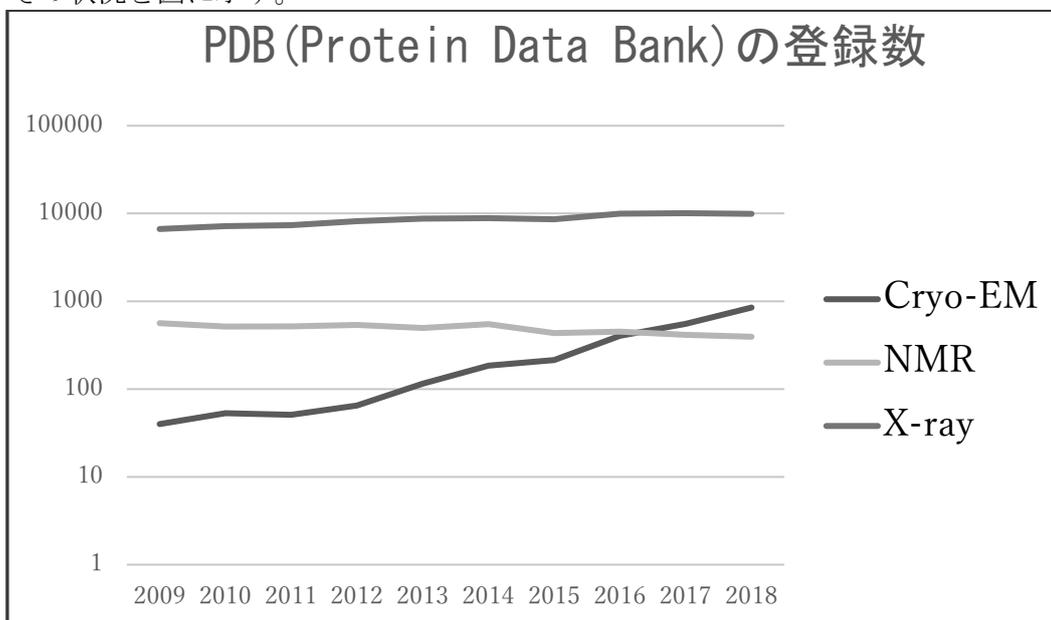
7. 調査研究結果

1) 学術データベース調査

平行して進めた調査研究のうち、学術データベース調査に関する結果から示す。

(1) Protein Data Bank の調査

PDBに登録された原子モデル数のここ十年の推移を、構造解析手法毎に示した。その状況を図に示す。



この結果から、単粒子クライオ電顕法が生体高分子やその複合体の高分解能手法の一つとして確立し、現状の原子モデル登録数の進捗からは、今後もその利用が拡大していくことが予想できる。次に、その中で現状の日本の研究状況を明らかにするため、2018年について、登録された原子モデルの国別の割合を計算した。

2018年のPDB登録数の国別割合

米国	中国	ドイツ	英国	日本
43% (164/367)	18% (69/367)	16% (62/367)	15% (58/367)	4% (14/367)

このように日本はかなり登録数が少ない状況にある。単粒子クライオ電顕法が高分解能構造解析手法としての地位を確立した現状を考えると、この割合を少なくとも10%中頃に増やしていく必要があると考えられる。

(2) Pubmed の調査

Pubmed で 2018 年に掲載されたクライオ電顕関連の論文を、その分野ごとに分類した結果を示す。分野としては、a. 単粒子クライオ電顕法に関するものとそれを利用した論文、b. クライオ電子線トモグラフィー (ET) 法に関するものとそれを利用した論文、c. 相関電顕法 (CLEM) に関するものとそれを利用した論文、d. microED (マイクロ電子回折) に関するものとそれを利用した論文、e. その他のクライオ透過電顕 (cryo-TEM) 法を利用した論文、f. クライオ走査電顕 (cryo-SEM) 法を利用した論文、g. クライオ電顕用試料作製に関する論文、h. クライオ電顕法に関わる計算科学論文、の 8 種類に分類した。

2018 年に掲載されたクライオ電顕法に関する主な医学生物学系論文数

a. 単粒子	b. ET	c. CLEM	d. Micro ED	e. Cryo- TEM	f. Cryo- SEM	g. 試料 作製	h. 計算 科学
252	64	9	8	137	52	23	67

このように、現在注目されている単粒子クライオ電顕法が、この分類の中では最も論文数が多い結果となった。

次に、このような研究における日本での状況を示すため、PDB の時と同様に国別の論文数の比較を行った。その結果を以下に示す。

単粒子の論文数の国別割合

米国	中国	ドイツ	英国	日本
48%(120/252)	21%(54/252)	13%(33/252)	11%(28/252)	6%(14/252)

ET の論文数の国別割合

米国	中国	ドイツ	英国	日本
33%(21/64)	3%(2/64)	24%(15/64)	9%(6/64)	6%(4/64)

Cryo-TEM の論文数の国別割合

米国	中国	ドイツ	英国	日本
17%(23/137)	12%(16/137)	20%(28/137)	3%(4/137)	7%(10/137)

Cryo-SEM の論文数の国別割合

米国	中国	ドイツ	英国	日本
23%(12/52)	15%(8/52)	21%(11/52)	9%(5/52)	6%(3/52)

試料作製の論文数の国別割合

米国	中国	ドイツ	英国	日本
27%(6/22)	0%(0/22)	9%(2/22)	9%(2/22)	9%(2/22)

計算科学の論文数の国別割合

米国	中国	ドイツ	英国	日本
31%(21/67)	13%(9/67)	7%(5/67)	7%(5/67)	1%(1/67)

2) シンポジウム開催

2019年6月8日の第15回IIRSセミナー後の第19回アカデミックサロンにおいて、研究代表者が調査研究の紹介を行った。

また、日本顕微鏡学会第75回学術講演会のIIRS冠ワークショップにおいては、クライオ電顕法の将来に関するパネルディスカッションを行った。

3) 訪問調査

2018年11月10日の第一回調査研究者会議に先だって、共同調査研究者である吉川雅英委員から、国内の高分解能クライオ電顕の共用利用ネットワークの聞き取り調査を行った。また、2019年9月15日にイギリスでのクライオ電顕の共用利用ネットワークについて、共同調査研究者である諸根信弘委員から説明を受けた。

4) 専門学会調査

日本生物物理学会年会での2018年と2019年のクライオ電顕法を用いた一般発表件数について比較した。2018年には22件だったのが、2019年には28件に3割程度増加していた。

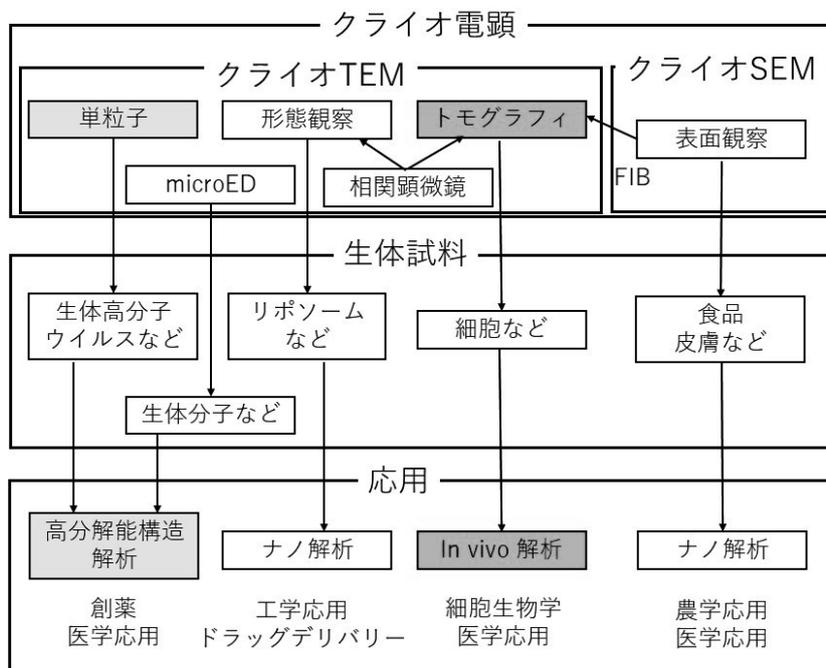
5) アンケート調査

2019年6月8日の第15回IIRSセミナー後の第19回アカデミックサロンにおいて、第1回のアンケート調査を実施し、22件の有効なアンケート結果を得ることができた。また、2019年6月19日に日本顕微鏡学会第75回学術講演会で開催したIIRS冠ワークショップにおいて、第2回アンケート調査を行い、38件の有効なアンケート結果を得ることができた。

その結果、国内でクライオ電顕を利用している研究者の多くは、細胞などを電子線トモグラフィ法などで解析したいと思っていることが明らかになった。

8. 考察と提言

このように、データベース調査とアンケート調査を基に、生体試料に対するクライオ電顕法の研究状況と、その中での日本の研究状況を調査した。その分野の分類や関係を下図に示した。単粒子が現状、最も注目されており、研究の発展が期待される。



また、アンケート調査から、日本の研究者の多くが電子線トモグラフィ法を将来的に期待しており、単粒子とともに対応することで、さらなる発展の可能性がある。