

複雑な生命を解明する クライオ電子顕微鏡

マーク・ストームス

電子直接検出器、低温処理技術、画像処理ソフトウェアの進歩により、クライオ電子顕微鏡の解像度と汎用性が劇的に向上している。

透過型電子顕微鏡 (TEM) は1930年代に誕生して以来、著しい発展を遂げてきた。電子の短い波長は、従来の光学顕微鏡を凌駕する分解能を提供する。電子直接検出器の導入、低温処理技術、画像処理ソフトウェアなどの進歩により、TEMの解像度と汎用性は飛躍的に向上した。これらの発展により、科学者は原子レベルの解像度で試料を可視化できるようになり、ナノ構造の理解が深まった。さらに近年では、創薬に不可欠な、大きな生体複合体から小さなタンパク質に至る構造と機能に関する知見をもたらしている。

1933年、エルンスト・ルスカ氏 (Ernst Ruska) は綿の繊維の試料に対して電子を透過させることで画像を生成できることを初めて実証し、この発見によ

り1986年にノーベル賞を受賞した。その後、ジャック・デュボシェ氏 (Jacques Dubochet)、ヨアヒム・フランク氏 (Joachim Franck)、リチャード・ヘンダーソン氏 (Richard Henderson) は、低温透過型電子顕微鏡 (クライオTEM) を用いて、タンパク質の原子レベルでの三次元 (3D) 構造を生成する技術を確立した。この技術では、通常、約-180℃の液体エタンを用いて、試料を極低温まで冷却するガラス化手法を利用している。これにより、生体分子は本来の水分保持状態を維持できる。

検出器技術が解明する タンパク質構造

過去30年間にわたり、クライオ電子顕微鏡のあらゆる部品が徐々に最適

化されてきた。2010年には、電荷結合素子 (CCD) カメラに代わって CMOS電子直接検出器が採用され、主要な技術的障壁が克服された。電子直接検出器 (DED) には、デジタル画像への即時アクセスと、広い空間周波数範囲での高い検出量子効率 (DQE) の利点があり、これによりシグナルノイズ比の優れた画像が得られる。画像の数が少なくても高解像度画像、最終的には3D再構成を実現でき、これはビームに敏感な生物学的試料のイメージングにおいて極めて重要である。

DEDはムービーモードでデータを取得でき、単一露光中に高速で一連のフレームをキャプチャする。さらなる進歩は電子イベント表現 (EER) の導入によりもたらされた。これは、個々の電子衝突の位置と時間を捕捉することで、データの時間分解能と空間分解能を完全な状態で保存するものだ。

2020年には、クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析法 (SPA) によって原子分解能の壁が突破され、かつてはやけた形状や「おぼろげなもの」でしか見えなかったものが、原子として鮮明に観察できるようになった。研究者はこの技術進歩を活用し、1.2オングストロームという画期的な構造分解能を達成した。ちなみに、ヘンダーソン氏らによる最初の高分解能構造は、1990年代初頭に達成された10オングストローム台であった。

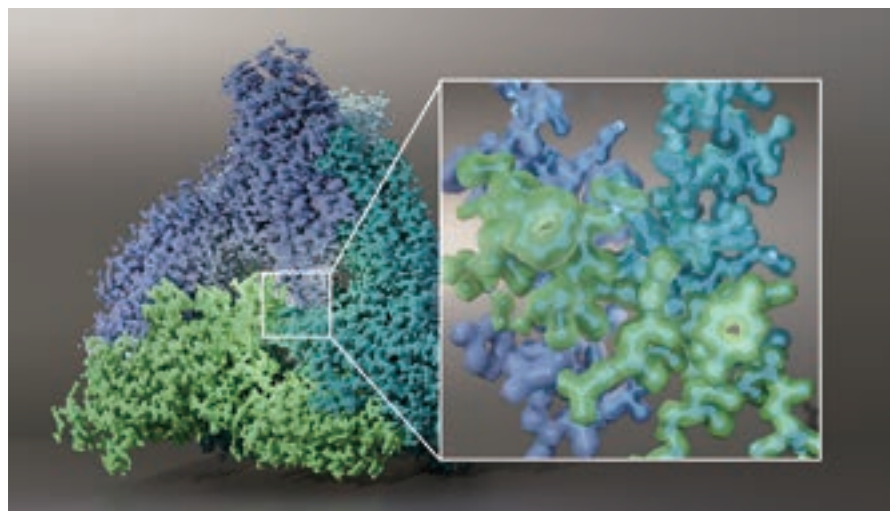


図1 Krios 5クライオ電子顕微鏡により決定された、1.52Å分解能におけるL-アラビノースイソメラーゼの構造(データ提供: インドネシア国立研究革新庁)

さらに近年、研究者は初めて、電子のエネルギー分散を抑える冷陰極電界放出型電子源と、非弾性散乱電子を除去する、より安定したエネルギーフィルタを組み合わせた。この組み合わせにより、画像のコントラストが向上すると同時に高空間周波数領域での解像度が向上し、原子分解能の限界が突破された。

最も印象的なことは、原子分解能でのクライオ電子顕微鏡により、タンパク質の構造内部の水分子における個々の水素原子さえ可視化できた点である。タンパク質構造内部および薬剤結合ポケット内の水素結合ネットワークの可視化により、薬剤と標的分子との相互作用についてより深く理解できるようになった(図1)。

自律型顕微鏡とAI

クライオ電子顕微鏡のイノベーションは、高解像度と高コントラストの領域を超えつつある。今日では学術研究機関だけでなく製薬機関でも導入が進み、日常的なワークフローの自動化ニーズが生まれている。連携ツールによるデータ取得と3D解析の効率化が実現する統合ソフトウェアソリューションも登場した。

今ではSPA ワークフローの多くの工程が自動化されている。例えば、ルーチンとなっているアライメント、つまり最適な氷厚で最適な格子枠とフォイルホルの選択が自動化されることで、経験レベルの異なる科学者でも高品質なデータを迅速かつ効率的に収集できる。サンプルオートローダーは顕微鏡内で複数のサンプルを同時に保持し、イメージング用のロードはロボット制御で行う。

クライオ電子顕微鏡は強力なツールである一方、データに精通した研究組織でさえ圧倒されるほどのデータ量が

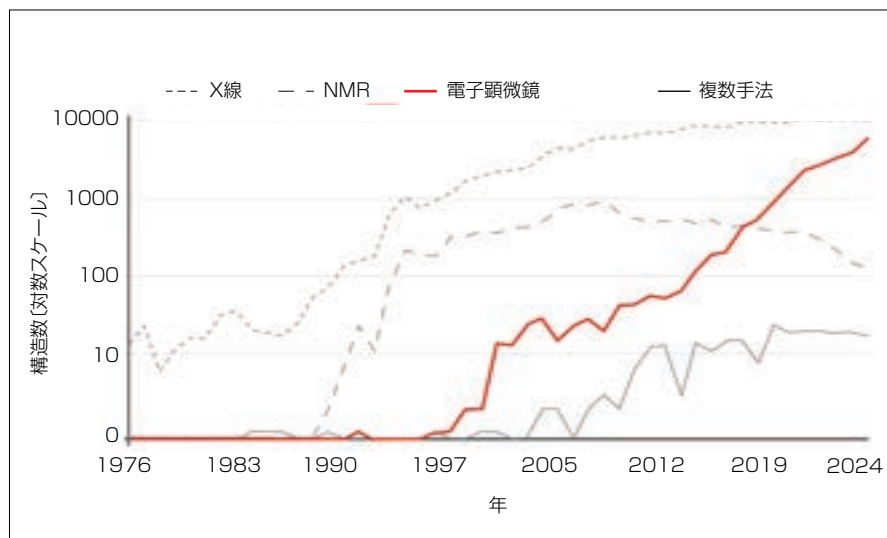


図2 タンパク質データベースからの年間リリース構造数

生成される。1つのクライオ電子顕微鏡データセットは数十万個の粒子画像で構成され、ギガビットからテラビット規模のデータに相当する。研究者らは、クライオ電子顕微鏡によるマップとモデルのデータベース構築を進めている。2025年現在、電子顕微鏡データベースには約4万の単粒子電子顕微鏡マップ、タンパク質データベースには2万5000以上の構造モデルが登録されている(図2)。この結果、構造情報の抽出効率化や顕微鏡画像からのデータ処理ワークフローの自動化にAI手法が応用されている。X線結晶構造解析など他の手法によるタンパク質データと併せ、これらの公開データベースはタンパク質構造を予測するAIニューラルネットワークプログラムに活用されている。

AIや機械学習(ML)が有望視されながらも見過ごされている分野の1つが、ライフサイエンス機器の操作である。例えばデータ取得ソフトウェア内のAIベースモデルは、グリッド上で最

適なイメージング領域を自動選択でき、これにより操作性とスループットが劇的に向上する。今日では、接続性を実現するデジタルソリューションが、画像やメタデータの自動整理といった包括的なプロジェクト管理を提供しており、リモートアクセスやデータ共有を可能にしている。結局のところ、効率的でユーザーフレンドリーなデータ収集が、科学の発見にとって基本的な要素であり続けるのだろう。

クライオ電子顕微鏡は、従来は困難だった多くのタンパク質クラスの構造解明を可能にした。これは低分子医薬品や生物学的製剤の開発に多大なインパクトを与えており、クライオ電子顕微鏡を用いて設計された数多くの分子が、現在、臨床試験段階にある。多量の研究と技術開発を通じて、クライオ電子顕微鏡は高分子、タンパク質、タンパク質複合体の3次元情報を提供し、動的な生物学的プロセスを解明することで、タンパク質の機能や疾患メカニズムのより深い理解に貢献している。

著者紹介

マーク・ストームスは、米サーモフィッシャーサイエンティフィック社(Thermo Fisher Scientific)のライフサイエンス部門プロダクトマーケティングマネージャー。