構造解析ユニット

補助事業代表者（所属・職名）
米倉　功治（東北大学 多元研・教授）

高分解能単粒子解析、電子線結晶構造解析及び AI測定の高度化と支援

補助事業分担者（所属・職名）
眞木　さおり（理化学研究所　放射光科学研究センター・研究員）、濵口　祐（東北大学 多元研・准教授）、川上　恵典（理化学研究所　放射光科学研究センター・研究員）、勝部 哲　（理化学研究所　放射光科学研究センター・研究員）、内藤　久志　（理化学研究所　放射光科学研究センター・先任研究員）、豊永　拓真（東北大学 多元研・助教）

高度化における研究背景・目的

各種技術を用いて多様な試料および試料形態を対象とした支援を実施している。従来の構造解析では対応が困難であった試料への適用範囲を広げるとともに、測定から解析までの自動化・高効率化を進め、支援基盤の高度化を図ってきた。

単粒子解析では、分子量が小さく柔軟性の高いドメインから構成されるタンパク質は、粒子の位置合わせや三次元再構成が困難であり、従来、解析が難しい試料の一つとされてきた。そこで、京都大学奥田、裏出、杉山らとの共同研究において、このようなタンパク質を対象として解析条件および解析手順を最適化し、3 Å台の構造解析を達成した。解析過程で得られた知見をもとにワークフローを整備し、同様の難易度の高い試料についても支援可能なシステムを確立した。また、生体機能発現のキーとなる水素や電荷の可視化のため、電子散乱因子の特性を活かした解析を進めている（Maki-Yonekura et al., *Commun. Chem.*, 2023; Takaba et al., *Nat. Chem.*, 2023）。

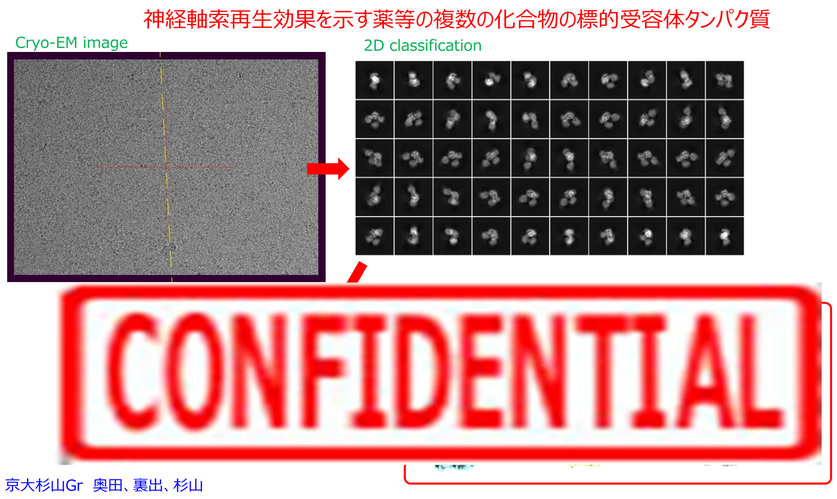
電子線三次元結晶構造解析（3D ED）では、微小結晶を効率的に測定し、構造解析まで迅速に進めるため、AIによる測定判定から自動解析までを一貫して行うGUIパイプラインを高度化した。AIによる撮影実施判定アルゴリズムを改良するとともに、誤判定画像の再学習と画像コントラストの増幅を組み合わせることで判定精度を向上させた。また、複数の電子顕微鏡およびカメラへの対応を容易にするため、コードを再構築し、異なる機器への移植性を高めた（発表準備中）。これにより、増加している微小結晶の構造解析支援に対して、より効率的かつ安定した測定・解析を可能とした。さらに、XFELについても、ハイスループット自動測定から自動解析までを行うパイプラインを開発・整備し、多数の試料を効率的に処理できる支援システムを構築した（発表準備中）。

新たな解析手法として、クライオ電子線分光解析（cryo-EELS）を用いた軽元素の多元素マッピング法を開発した。電子線の分光特性を利用することで、凍結溶液中の試料に含まれる炭素、酸素、リン、カルシウムなどの軽元素の分布を可視化することを可能とした（Unabara et al., *Anal. Chem.* 2025; *Microscopy*, 2026）。これにより、従来の形態観察や構造解析だけでは得ることが難しかった元素分布に関する情報を取得できるようになり、新たな支援技術として利用可能なシステムを確立した。今後、さまざまな生体試料および液相材料への応用が期待される。

高度化の成果

柔軟なドメインから成る分子量54kDaの酸化的フォールディング酵素のクライオEM単粒子解析

神経軸索再生効果を示す薬等の複数の化合物の標的受容体タンパク質



京大杉山Gr　奥田、裏出、杉山
理研米倉Gr　勝部、川上

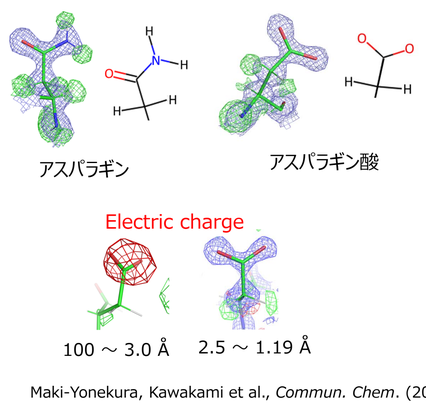
- 誘導適合
- コンフォメーション選択

➡ 対応

➡ 解析パイプラインの構築

計算科学、溶液散乱、NMR等と連携

水素原子と電荷を可視化

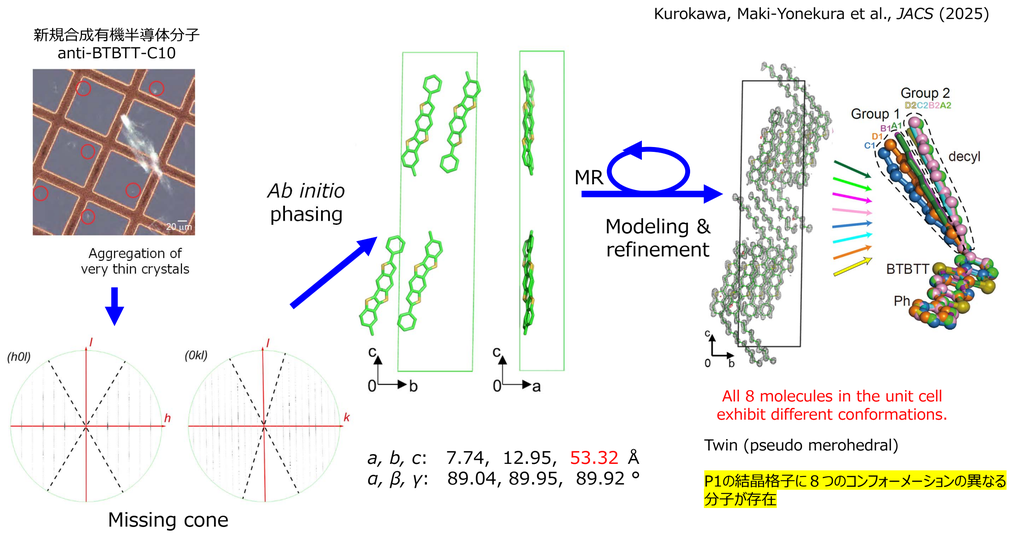


Maki-Yonekura, Kawakami et al., *Commun. Chem.* (2023)

電子散乱因子の特性を利用

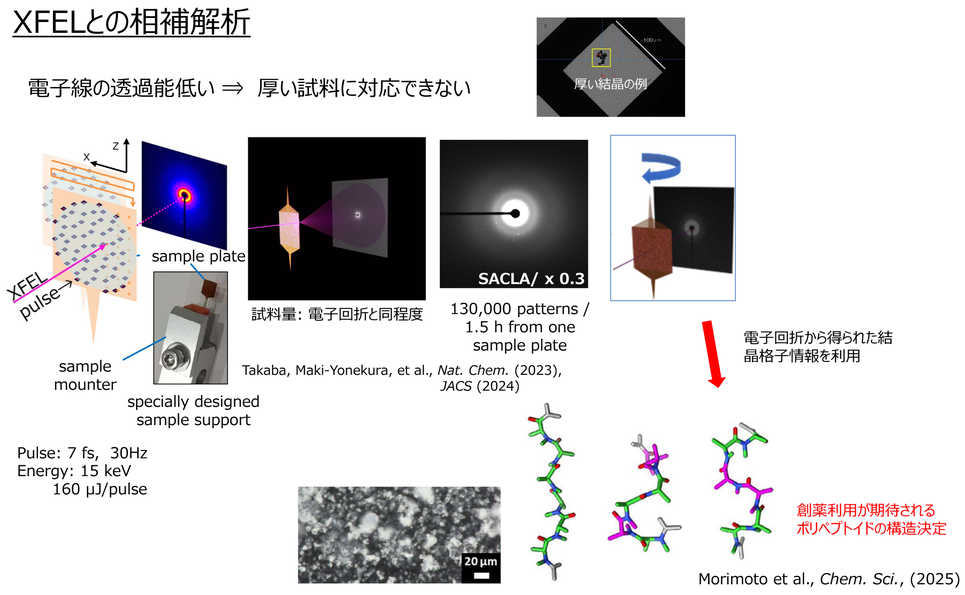
非常に難しい試料の電子線三次元結晶構造解析法（3D ED）の開発

Kurokawa, Maki-Yonekura et al., *JACS* (2025)

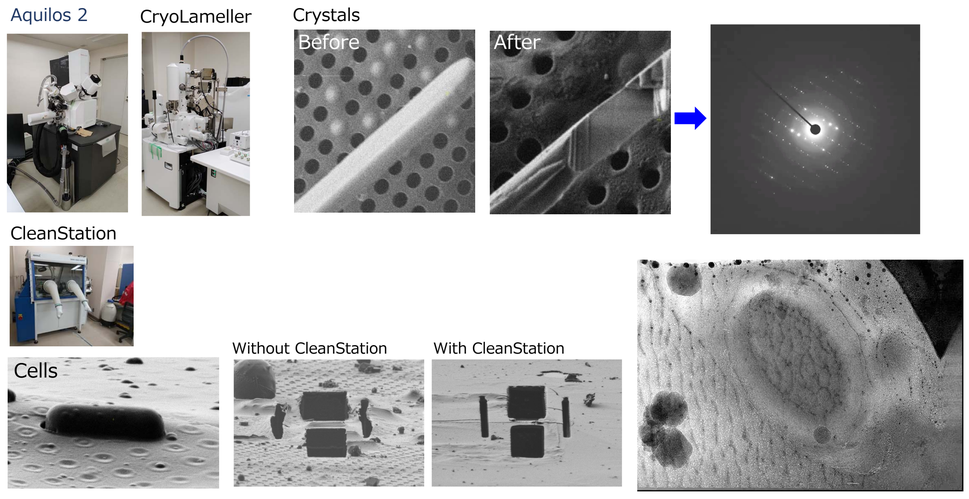


XFELとの相補解析

電子線の透過能低い ⇒　厚い試料に対応できない

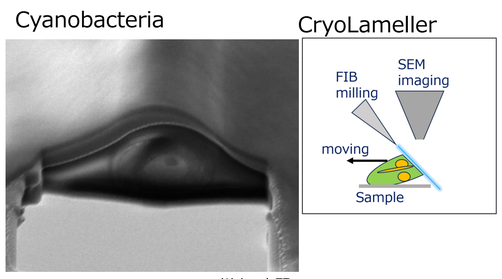


Cryo-FIB による試料加工



Near-native structural analysis of mature bacterial spores within extracellular polymer networks by cryo-TEM and cryo-FIB-SEM
Niwa, Toyonaga, Katsube, Kawakami, Unabara, Yonekura, Hamaguchi
Submitted

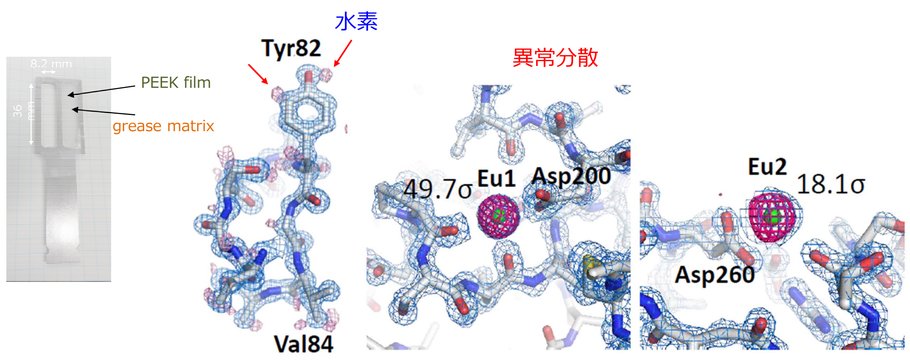
非染色クライオvolume EM



川上、宇野

- 従来のクライオETでは、細胞の長軸に対して垂直な方向から観察することは、難しい。

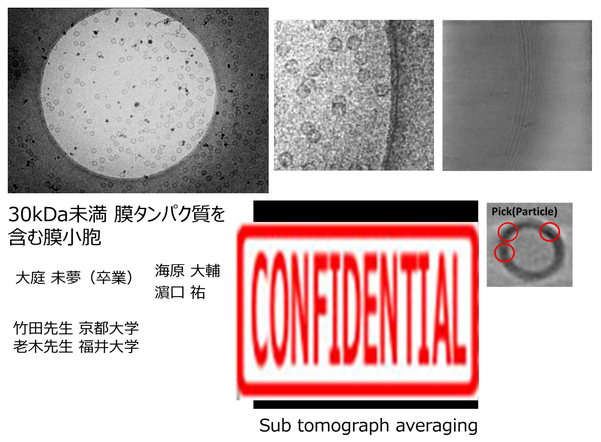
タンパク質結晶ハイスループットSerial crystallographyへの応用



液体ジェット方式でのノズルのつまり等の問題は皆無。

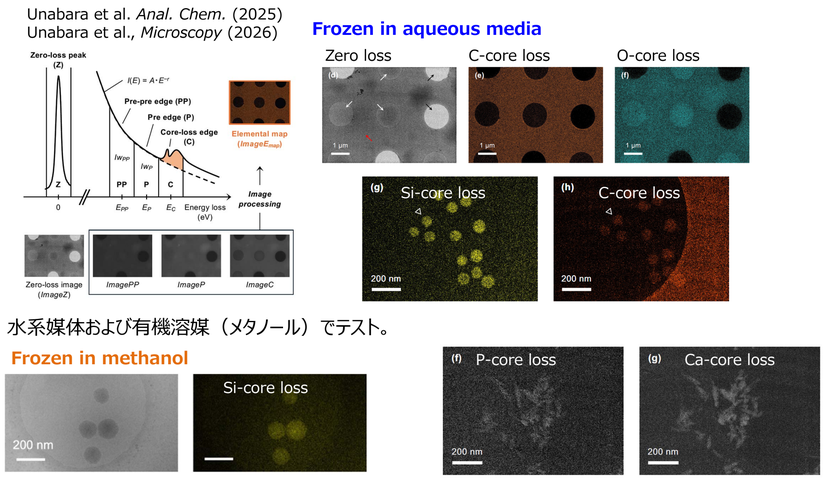
Sugahara, Maki-Yonekura et al., *J. Synchrotron Rad.* (2026)

膜小胞中の膜タンパク質の構造解析



クライオEELSによる液相材料中の軽元素の多元素マッピング

Unabara et al. *Anal. Chem.* (2025)
Unabara et al., *Microscopy* (2026)



今後の発展

本事業において整備した単粒子解析、3D ED、cryo-ET、cryo-FIB-SEM、 volumeEM、cryo-EELSおよびXFELの各技術をさらに高度化し、従来は解析が困難であった試料や微小試料に対する支援範囲を拡大する。単粒子解析では、低分子量かつ柔軟性の高いタンパク質など、これまで構造解析が困難であった試料への適用をさらに進め、安定した解析ワークフローとして確立する。3D EDおよびXFELでは、AIによる測定判定と自動解析の高度化を進め、より高いスループットで効率的な構造解析を実現する。また、cryo-EELSによる軽元素の多元素マッピングについては、対象元素および試料の適用範囲を拡大し、水素や電荷の可視化とともに構造情報と組み合わせた新たな解析手法として発展させる。cryo-ET、cryo-FIB-SEM、 volumeEMの運用技術開発も進め、これらの技術を相補的に活用することで、多様な試料に対して測定から解析までを一貫して支援できる高度な構造解析基盤を構築し、構造生物学、材料科学、創薬など幅広い研究分野への展開を推進する。