2. 基礎研究から応用展開に向けて (b) 技術開発型研究

低温電子顕微鏡法による生体超分子構造の解析 —電子顕微鏡はどこまでタンパク質の立体構造に迫れるか—

理化学研究所放射光科学総合研究センター 米倉功治

Koji YONEKURA: Cryo-Electron Microscopy of Biological Macromolecular Structures

There are many huge macromolecular complexes in living organisms. They are often hard to crystallize because of their size, complexity and heterogeneity. Cryo-electron microscopy (cryo-EM) is a suitable method to analyze the structures of such biological macromolecules, because it can be applied to various forms of samples, *e.g.* two-dimensional crystal, helical assembly, spherical virus, dispersed particle, cell organelle and cell, although attainable resolution depends on the system. In this review, I introduce these techniques and examples of the structure analysis, and briefly review the perspective of cryo-EM.

1. はじめに

生体分子は、それぞれが生体内のいろいろな環境に適応して働いている。巨大な複合体を形成し機能する例も数多い。これら超分子の作動、自己組織化の機構の解明には、生理的な環境下における立体構造の情報が求められる。低温電子顕微鏡法による構造解析では、試料の形態、分子量による制限は緩く、結晶化は必ずしも必要でない。透過型電子顕微鏡を用いて、非晶質の氷中にある試料を透過した電子線を結像するため、生理的な環境に近い状態での立体構造を解析することができる。得られる構造の到達分解能は試料の形態に依存するが、近年、細菌のべん毛繊維や、球状ウィルスタンパク質などの対称性の良い試料では、原子モデルの構築が可能となる分解能での構造解析がなされてきている。また、低温電子線トモグラフィーでは、氷に包埋した無染色試料の傾斜像の組からその三次元構造を再構成するため、汎用性は非常に高い。本稿では、結像の原理、構造解析法などを概説し、实例を紹介しつつ低温電子顕微鏡法の今後を展望する。

2. 特徴

電子線は、軽い原子との相互作用がX線に比べて約10万倍も強く、¹⁾電磁レンズを作ることにより、タンパク質1分子の実像を得ることができる。一方、相互作用が強いことは、扱える試料の厚さを制限し、加速電圧100～300 kVの汎用的な電子顕微鏡では、数千Åを超える厚さの試料の透過像を正確に解釈することはできない。X線による構造解析が原子の電子雲からの散乱を反映するのに対して、電子線では電荷のポテンシャル分布を反映する。

2.1 氷包埋法

タンパク質分子は、主として炭素、窒素、酸素、水素な

どの軽い元素から構成される。そこでコントラストを上げるため、試料をウランやタンゲステンなどの重金属塩で染色し乾燥させる、負染色が広く行われてきた。しかし、この方法では、染色むらや試料の変形は避けられない(図1b)。一方、低温電子顕微鏡法では、試料溶液を電子顕微鏡用グリッドに載せ余分な溶液を吸い取った後、液体エタンで急速に凍結する氷包埋により、生理的な環境下で無染色の試料を観察することができる(図1c)。冷却することで電子線による試料損傷を大幅に低減でき、室温での観察に比べ液体窒素による冷却(～90 K)で約1/10に、液体ヘリウム温度(4 K)では、約1/20にすることができると考えられている。²⁾しかし、それでも試料損傷は深刻な問

図1 負染色と氷包埋における試料状態の比較。(Cartoon of negatively stained and frozen-hydrated biological samples.) (a) 生理的環境下でのタンパク質試料。(b) 負染色。(c) 氷包埋。負染色では、試料を重金属塩で染色し乾燥させるので、染色むらや変形が起こる。一方、氷包埋では水溶液中の生理的な環境下で試料を観察することができる。

図2 細菌べん毛繊維の負染色像と氷包埋像の比較。(Images of negatively stained and frozen-hydrated bacterial flagellar filaments.) (a) 負染色像. (b) 電子分光により非弾性散乱電子を除き撮影した氷包埋像. (c) bと同一視野を電子分光しないで撮影. べん毛繊維と炭素支持膜(上部)の端のコントラストが電子分光により改善されているのがわかる.³⁾ スケールバーの大きさは1,000 Å.

題であり、構造解析の分解能を制限する主因となる。電子線照射は試料に質量欠損を生じさせたり、共有結合を切断しラジカルを発生させたりする。生成したラジカルは周囲の構造を次々に破壊して、最終的に試料は蒸発してしまう。したがって照射電子線量を非常に少なく抑える必要がある。高分解能の構造解析への目安として10～20電子/Å²程度にしなければならず、結果として写真の信号対雑音比は非常に低くなる。

2.2 コントラスト

像のコントラストは、主に、試料中で弾性散乱によって位相が変えられた波と散乱されずに透過した波の干渉の結果生じる位相コントラストに起因する。一方、電子線の試料への吸収や対物絞りの外への散乱から生じる振幅コントラストの寄与は小さく、氷包埋像では、全コントラストの数パーセントにしかない。試料と氷との電子散乱断面積の差は小さく、像のコントラストは低い。したがって、構造解析を信頼性高く行うには、多くの像の平均が必要となる。図2に負染色と氷包埋した試料の電子顕微鏡像を示す。

電子顕微鏡写真は、対物レンズにより特殊な点広がり関数の変調を受ける。その空間周波数分布をコントラスト伝達関数 (contrast transfer function ; CTF) と呼び、概形はフォーカスのずれに依存したsin的な関数となる。電子顕微鏡写真のフーリエ変換は、CTFとの積で表され、正しい像解釈にはその補正が必須となる。CTFは電子線の可干渉性、色収差、加速電圧の揺らぎなどの影響から、周波数が高くなるに従い減衰していく。電界放射型の電子銃では電子線の干渉性が高くCTFの減衰が小さいため、生体分子の氷包埋像から高分解能の構造解析を行ううえで、必須となっている。

2.3 エネルギーフィルター

入射電子とタンパク質を構成する軽原子との相互作用では、エネルギーを失う非弾性散乱が多いが、それらは試料を破壊するとともに結像の際、ノイズになる。電子線の分光装置 (エネルギーフィルター) を用いることで非弾性散乱された電子を除き、弾性散乱された電子のみによる像を得ることができる (ゼロロス像)。詳細は省くが、筆者らは、ゼロロス像では、振幅コントラストが2倍程度増加すること、また、信号対雑音比が大幅に改善されることを示した。³⁾ 図2bとcに電子分光のありなしで撮影したべん毛繊維の氷包埋像を示す。位相コントラストのCTFは周波数空間の原点でゼロとなり、低周波数領域では振幅コントラストが大きく影響する。したがって、振幅コントラストが増すことで、像の“見え方”が改善されているのがわかる (図2b)。近年、エネルギーフィルターの製品化が進んでおり、生体試料の構造解析へのさらなる利用が期待される。

3. 構造解析法

対象のある方向への投影像をフーリエ変換したものは、フーリエ空間の原点を通る一断面になる (中央断面定理)。したがって、電子顕微鏡像を投影像とみなせる薄い試料では、いろいろな方向からの投影像を集めることで、三次元像を再構成することができる。結晶性をもつ試料では、フーリエ空間で対象を表現する周波数成分が限定され、規則的な点や線の集合という離散的な信号になるので、それ以外の大部分をノイズとして除くことができる (フーリエフィルタリング)。結晶性のない試料では、各二次元投影像を角度ごとに投影し直す逆投影 (back projection ; 逆ラドン変換) や、投影像のフーリエ変換を逆空間で直交座標へサンプリングし直すことにより、三次元再構成を行う。

3.1 二次元結晶

分子が平面的に一層に並んでいる二次元結晶の場合、そのフーリエ変換は結晶面に垂直な格子線の集合になる。試料を傾斜させて格子線上の構造因子を集め、三次元構造を計算することができる。高度好塩菌の紫膜、⁴⁾ 高等植物のクロロフィルタンパク質複合体、⁵⁾ 赤血球の水チャネル、^{6),7)} などの膜タンパク質はその理想的な例である。これらの二

次元結晶は一辺が10 μm 以上の大きさになるものもあり、少ない電子線量で広範囲の領域を照射することにより、高分解能の回折点を得ることが可能である。回折パターンはCTFの影響を受けない散乱強度を与え、実像から得た位相と組み合わせることにより、1.9 ~ 3.8 Å 分解能の構造解析が上記の膜タンパク質でなされている。最大の問題は、試料ホルダーの構造、試料形態の制限から、高傾斜のデータを集めることができないことである。一般的に最大±70° 傾斜までの回折パターンが使われるが、データを集められない領域が円錐状に残ってしまい（ミッシングコーン）、結晶面に垂直な方向の分解能は悪くなる。

3.2 らせん再構成

筋肉のアクチン繊維,⁹⁾ 細菌のべん毛繊維,⁹⁾ タバコモザイクウイルス¹⁰⁾ などの繊維状の分子集合体や、アセチルコリンレセプター,¹¹⁾ Ca^{2+} -ATPase¹²⁾ などの膜タンパク質のチューブ状結晶では、分子が長軸の周りにらせん状に配置している。らせん軸に沿った方向にのみ規則的な並びがあるので、一次元結晶と考えることができる。そのフーリエ変換は赤道線に平行に並んだ線（層線）の集合になる。1枚の電子顕微鏡像にいろいろな方向を向いた分子が写っており、分子の投影方向の偏りがなく一様で上述のミッシングコーンの問題もない。理論上は1枚の写真からでも三次元構造を得ることができる。¹³⁾ しかし、実践上は、赤道線に平行な方向では試料の歪みの影響を受けやすく高分解能領域の情報は減衰してしまうので解析の分解能と信頼性を上げるためには、多くの像の平均が必要となる。筆者らは、細菌べん毛繊維をこの手法により約4 Å 分解能で構造解析し、原子モデルの構築を行うことができた（後述）。⁹⁾

3.3 単粒子解析

単粒子解析法は、分散した分子のいろいろな向きの投影像を集めて、それらの向きを決定し、三次元再構成を行うという手法である。その実際は文献14) に詳しい。最大の長所は、試料の結晶を作る必要がないということである。また、結晶格子に縛られない、より自然な構造を解析できる可能性も高い。個々の投影像の向きを決定する方法として、同一試料の傾斜像と非傾斜像の組を利用するランダムコニカルティルト法、投影方向の異なる二次元像も逆空間では2つの中央断面となり両者の交差する直線部では共通する構造因子をもつということを利用したコモンラインズ法（angular reconstitution 法ともいう）などが用いられる。初期三次元構造が得られたら、それをいろいろな方向に再投影し、元の二次元像との相関を高めるように投影角を精密化する。氷包埋像では、コントラストが低く小さな分子の解像が困難になるため、この手法は通常、分子量数十万以上のものにしか適用できない。分子量が大きく、また分子内の対称性が高い試料ほど解析は容易になり、より高い分解能での解析が期待できる。最近、球状ウイルスのキャプシドタンパク質で4 Å 程度の分解能が達成された

（後述）（文献15）など。また、溶液中分散した分子からコンフォメーションの異なるものをクラス分けし、それぞれの三次元構造解析からドメインの動きに関する知見を得るという応用例も報告されている（文献16）など。

3.4 トモグラフィー

上記の手法は、いずれも少なくともあるグループ内では同一のコンフォメーションをもつ均一な試料であることが前提であったが、電子線トモグラフィーでは必ずしもそうである必要はない。低温電子線トモグラフィーは、氷に包埋した無染色の試料の傾斜像を集めその三次元構造を再構成する手法で、自動撮影技術の進歩に伴い近年急速に発展している。この方法では、同一試料に対して複数の傾斜像（30 ~ 150 枚）を撮影するため、電子線照射の累積により試料損傷が大きくなってしまふ。試料損傷を最小限に抑えるべく像1枚当たりの電子線照射量を非常に少なくしなければならず、結果として個々の傾斜像の信号対雑音比はさらに低下し、分解能が悪くなる原因になる。1枚のトモグラムから得られる構造は100 ~ 数十 nm 程度の分解能であるが、三次元分子像を平均することによる分解能の改善も行われている。これまでに、分子モーターミオシンVの休止状態の構造が24 Å 分解能で解析されたほか、¹⁷⁾ 人免疫不全ウイルスの外被中での糖タンパク質の三量体構造が20 Å 程度の分解能で解像されている。¹⁸⁾ また、ある程度の大きさがある試料、細胞、組織片などの場合、高圧下で凍結、切片にする（cryo-electron microscopy of vitreous sections ; CEMOVIS）ことで、無染色でそのまま構造解析に用いることができる（文献19）など。

4. 解析の実例

4.1 らせん再構成法による細菌べん毛繊維の構造解析

細菌の運動器官であるべん毛は、細胞膜を透過するイオン流を使って200 ~ 300 Hz で回転する生体分子機械であり、約30種類の異なったタンパク質からなる超分子複合体である。べん毛繊維は分子量約5万の一種類のタンパク質フラジェリンから構築される。2万~3万ものフラジェリンがらせん状に重合し、その長さは菌体長の約10倍、10 ~ 15 μm にも達する。筆者らは、低温電子顕微鏡法とらせん再構成の技術開発²⁰⁻²³⁾ により、サルモネラ菌の直線型べん毛繊維の立体構造を約4 Å 分解能で解析した。⁹⁾ 電子顕微鏡像からの構造解析では、実像から信頼度の高い位相情報を直接得ることができる。ここでは、 α -ヘリックスのねじれが非常によく解像できたほか、大きな側鎖に相当する密度も解像できたため、得られた密度図に基づき原子モデルを構築した。⁹⁾ 図3にべん毛繊維の原子モデルを示すが、フラジェリンが繊維の最内側で α -ヘリックス束を形成し、繊維構造を安定化することが明らかになった。分子間で密な疎水性相互作用を形成するこの内側部位は、繊維形成能のないフラジェリン断片の結晶構造²⁴⁾ には含ま

図3 細菌べん毛繊維の原子モデルのステレオ表示.⁹⁾ (Atomic model of the flagellar filament in stereo view.) (a) べん毛繊維軸方向から見たもの。(b) 横から見たもの。見やすいように手前の一部の素繊維を取り除いてある。べん毛繊維の直径は240 Å。

れない。両者の間には、ほかの部位にも構造の違いが認められ、結晶中と実際の繊維の構造に大きな違いがあることが明らかになった。この結果、結晶格子に縛られない、生体超分子の生理的構造を解析できる低温電子顕微鏡法の利点が明確になった。べん毛は病原性細菌の病原因子分泌装置 (Type III 輸送装置) と遺伝的に高い相関関係にある。病原因子は、ニードルと呼ばれる繊維中央のチャンネルを通して宿主まで運ばれるが、この解析により、その輸送経路の構造に関する詳細な情報を初めて得ることができたということも付け加えたい。⁹⁾

ここで解析したのはR型と呼ばれる繊維構造である。細菌の遊泳には、べん毛繊維が緩やかな曲率をもつ超らせん形態をとることが必要である。一方、餌となる化学物質に向かったり水温の低い場所から逃げたりする際、べん毛モーターの逆回転が起こり、べん毛繊維の超らせん構造が左巻きから右巻きに変換する。超らせん構造はL型と呼ばれるコンフォメーションの異なる素繊維と、R型との混合から形成される。²⁵⁾ 最近、筆者らはL型のべん毛繊維を同程度の分解能で構造解析し、L型とR型の構造変化

図4 べん毛繊維とそのキャップタンパク質の構造.²⁸⁾ (Structures of the bacterial flagellar filament and its cap protein.) (a) べん毛繊維軸方向からの見た構造。(b) 繊維軸に垂直な方向から見た構造。(c) 軸に沿った断面図。(d) aに示した5つの方向から見た構造。1の方向にのみ存在する逆L字型の大きなギャップが、次に輸送されてくるフラジェリン分子の結合部位と考えられる。(e) 単離したHAP2キャップの5量体の構造。²⁶⁾ cの矢印は、複合体中でHAP2の足状ドメインに相当すると思われる部位を示す。c, eのスケールバーは、それぞれ100 Åと50 Å。キャップの回転によるべん毛繊維の伸長モデルの動画を <http://www.riken.jp/biostmrch/data/FHgrowth.html> に掲載。

から引き起こされるべん毛繊維の形態変換機構に関する知見を得た (Maki-Yonekura *et al.*: *Nat. Struct. Mol. Biol.*, in press)。

4.2 べん毛繊維とそのキャップタンパク質の複合体の構造解析

べん毛繊維は、構成分子であるフラジェリンがべん毛中央の細いチャンネルを通して細胞内から先端へ運ばれ、先端

部に次々に結合することで伸長する。そこにはキャップタンパク質、HAP2 (hook associated protein 2) が結合している。氷包埋像の単粒子解析から、単離したべん毛キャップは、図4eのような板状ドメインと5本の足状のドメインから構成される5量体の構造をとることが明らかになった。²⁶⁾ HAP2の欠損株では輸送されたフラジェリン分子は先端から溶液中に放出され、べん毛繊維は伸長しない。このべん毛繊維とキャップの複合体の均一な試料を調製することは難しく、結晶化は不可能と思われる。したがって、低温電子顕微鏡法による単粒子解析を行った。二次元像を繊維軸に沿った方向とそれに垂直な方向へ投影した一次元分布を面内での像の整列に利用することと、べん毛繊維のらせん対称性を投影方向の決定に利用することより、²⁷⁾ 比較的少数の像 (約400枚の像) から三次元構造を得ることができた。²⁸⁾ 分解能は約27 Åと高くないが、HAP2キャップの五角形板状構造 (図4a) と、運ばれてきたフラジェリン分子の結合部位と思われる逆L字型のギャップ (図4d1) を解像することができた。フラジェリンの輸送経路である中央のチャンネルの直径は約20 Å (図3) であり、⁹⁾ フラジェリンは輸送中かなりほどけた状態にならない。キャップの板状構造の直下にある空間 (図4c) が、ほどけた状態で細い中央チャンネルを通して運ばれてきたフラジェリン分子の巻き戻りを助ける、“フォールディングチャンバー”として働いていることも示唆された。以上の解析結果に基づいて、キャップの足状ドメインがべん毛繊維先端のらせん階段を昇るように柔軟に動き、結果としてキャップ全体が回転していくことで、フラジェリンの結合が促進されべん毛繊維が効率良く成長するというモデルを提案できた。²⁸⁾

4.3 単粒子解析による高分解能の構造解析

最近、らせん対称性をもつタバコモザイクウイルス、¹⁰⁾ 正二十面対称性をもつ球状ウイルスのキャプシドタンパク質¹⁵⁾などで、単粒子解析により大きなアミノ酸側鎖の解像ができる分解能と品質の構造解析がなされている。一般に、対象の大きさ (D)、分解能 (d)、およびその分解能において必要とされる投影像の数 (N) の関係を表す下の式が知られている。

$$N = \pi \cdot D/d$$

タバコモザイクウイルスの直径は約180 Å、キャプシド粒子の直径は、約700 Åであるため、4 Å分解能で解析するためには、計算上は、それぞれ約140枚と550枚の異なる方向からの投影像があればよいということになる。ただし、ここでは投影方向は等角度で分布しているものとしている。実際には、電子線照射損傷や試料の微動による像の劣化、信号対雑音比の低い像の整列の誤差、CTFや倍率など各種パラメータの誤差から、はるかに多くの電子顕微鏡像が必要となる。上のウイルス試料は分子内に

図5 低温電子顕微鏡法により得られた高分解能の密度図の例。(High-resolution density maps of macromolecular complexes analyzed by cryo-EM.) (a) R型べん毛繊維中のフラジェリン1分子の密度図とその原子モデルのCαトレースを重ねて表示。⁹⁾ (b) タバコモザイクウイルス。¹⁰⁾ (c) ロタウイルスのキャプシドタンパク質 (VP6) 三量体。¹⁵⁾ α-ヘリックス, β-シート, ループなどがよく解像されている。密度図とモデルの一致度は、それぞれの原著論文を参照のこと。b, cは、EM Data Bank (<http://emdatbank.org/>) より、ダウンロードしたもの (ID code はそれぞれ 1316, 1461)。図は、UCSF Chimera²⁹⁾ で作成。

高い対称性を有するため、十分細かい間隔で構造因子を集めることができるが、三次元構造の計算には、それぞれ約20万個と数百万個の非対称単位の平均を必要とした。一方、分子内の対称性の低い試料、分子量の小さい試料の単粒子解析では、依然として高い分解能を得ることは難しいのが現状である。

R型のべん毛繊維 (直径約240 Å) の解析では、使用した繊維像の数は102本で、この数は約42,000個の分子像に相当する。⁹⁾ らせん対称性という一次元の結晶性からは、フーリエフィルタリングにより抽出した信号部を、像の整列、倍率の補正などに用いることで、単粒子解析と比べて、桁違いに良い精度で解を得ることが可能になる。この解析では、さらに、液体ヘリウム温度で電子線による試料損傷を最小限に抑えたこと²¹⁾や、らせん対称性が高分解能領域までよく保たれている像のみを選択したこと、²¹⁾ 加えて、繊維像の三次元的な歪み補正、²³⁾ 溶媒領域より積み込まれるノイズの除去²⁰⁾などの画像解析が、分解能の改善に非常に有効であった。その結果、上の単粒子解析の例より少ない数の分子像から、二次構造の特徴、ループ、大きなアミノ酸側鎖などを解像できる構造解析を行うことができたと考えられる (図5a)。^{9), 22)} 実際、コンフォメーショ

ンの異なるL型べん毛繊維では、多くの繊維像から厳選し約37,000個の分子像から、同様の解析により同程度の分解能と品質の密度図を得ている(Maki-Yonekura *et al.*: *Nat. Struct. Mol. Biol.*, in press).

5. 展 望

低温電子顕微鏡法は、現在もまだ発展途上の部分も多く、得られる構造の分解能は通常高くないが、近年、二次元結晶以外でも対称性の高い試料からの高分解能の構造解析例は増えつつある。上述したようにほかの解析手法に比べ試料形態の制限が緩く、超分子複合体の自然な動作環境下での構造を解析することができるということは、生命機能解明のためのツールとして高いポテンシャルを示すものである。さらに細胞小器官、細胞、組織の一部をそのまま試料とすることもできる。電子顕微鏡法から得られた密度図に、X線回折から得られた結晶構造を当てはめ、複合体中の部分構造の同定、ドメインの構造変化の解析なども広く行われてきている。分解能の改善の努力も続けられている。低温電子顕微鏡法の独自性を活かすことにより、今後もX線結晶回折法、NMR法とともに、その重要性が高まっていくことは間違いないと考えられる。

謝 辞

本稿の校正、図の作成などで助言をいただいた理化学研究所眞木さおり研究員、東京大学豊島近教授に感謝いたします。

文 献

- 1) R. Henderson: *Q. Rev. Biophys.* **28**, 171 (1995).
- 2) Y. Fujiyoshi: *Adv. Biophys.* **35**, 25 (1998).
- 3) K. Yonekura, M. B. Braunfeld, S. Maki-Yonekura and D. A. Agard: *J. Struct. Biol.* **156**, 524 (2006).
- 4) R. Henderson, J. M. Baldwin, T. A. Ceska, F. Zemlin, E. Beckmann and K. H. Downing: *J. Mol. Biol.* **213**, 899 (1990).
- 5) W. Kühlbrandt, D. N. Wang and Y. Fujiyoshi: *Nature* **367**, 614 (1994).
- 6) K. Murata, K. Mitsuoka, T. Hirai, T. Walz, P. Agre, J. B. Heymann, A. Engel and Y. Fujiyoshi: *Nature* **407**, 599 (2000).
- 7) T. Gonen, Y. Cheng, P. Sliz, Y. Hiroaki, Y. Fujiyoshi, S. C. Harrison and T. Walz: *Nature* **438**, 633 (2005).
- 8) 若林健之: 蛋白質核酸酵素 **47**, 553 (2002).
- 9) K. Yonekura, S. Maki-Yonekura and K. Namba: *Nature* **424**, 643 (2003).
- 10) C. Sachse, J. Z. Chen, P. D. Coureux, M. E. Stroupe, M. Fändrich and N. Grigorieff: *J. Mol. Biol.* **371**, 812 (2007).
- 11) N. Unwin: *J. Mol. Biol.* **346**, 967 (2005).
- 12) P. Zhang, C. Toyoshima, K. Yonekura, N. M. Green and D. L. Stokes: *Nature* **392**, 835 (1998).
- 13) 米倉功治, 豊島 近: 細胞工学 **16**, 1839 (1997).
- 14) J. Frank: Three-dimensional electron microscopy of macromolecular assemblies. Oxford University Press, New York (2006).
- 15) X. Zhang, E. Settembre, C. Xu, P. R. Dormitzer, R. Bellamy, S. C. Harrison and N. Grigorieff: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 1867 (2008).
- 16) J. M. Kollman, A. Zelter, E. G. Muller, B. Fox, L. M. Rice, T. N. Davis and D. A. Agard: *Mol. Biol. Cell.* **19**, 207 (2008).
- 17) J. Liu, D. W. Taylor, E. B. Kremetsova, K. M. Trybus and K. A. Taylor: *Nature* **442**, 208 (2006).
- 18) J. Liu, A. Bartesaghi, M. J. Borgnia, G. Sapiro and S. Subramaniam: *Nature* **455**, 109 (2008).
- 19) A. Al-Amoudi, D. C. Díez, M. J. Betts and A. S. Frangakis: *Nature* **450**, 832 (2007).
- 20) K. Yonekura and C. Toyoshima: *Ultramicroscopy* **84**, 29 (2000).
- 21) K. Yonekura, C. Toyoshima, S. Maki-Yonekura and K. Namba: *J. Struct. Biol.* **144**, 184 (2003).
- 22) K. Yonekura, S. Maki-Yonekura and K. Namba: *Structure* **13**, 407 (2005).
- 23) K. Yonekura and C. Toyoshima: *Ultramicroscopy* **107**, 1141 (2007).
- 24) F. A. Samatey, K. Imada, S. Nagashima, F. Vonderviszt, T. Kumasaka, M. Yamamoto and K. Namba: *Nature* **410**, 331 (2001).
- 25) S. Asakura: *Adv. Biophys.* **1**, 99 (1970).
- 26) S. Maki-Yonekura, K. Yonekura and K. Namba: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 15528 (2003).
- 27) K. Yonekura, S. Maki-Yonekura and K. Namba: *J. Struct. Biol.* **133**, 246 (2001).
- 28) K. Yonekura, S. Maki, D. G. Morgan, D. J. DeRosier, F. Vonderviszt, K. Imada and K. Namba: *Science* **290**, 2148 (2000).
- 29) E. F. Pettersen, T. D. Goddard, C. C. Huang, G. S. Couch, D. M. Greenblatt, E. C. Meng and T. E. Ferrin: *J. Comput. Chem.* **25**, 1605 (2004).

プロフィール

米倉功治 Koji YONEKURA
理化学研究所 放射光科学総合研究センター
RIKEN SPring-8 Center
〒679-5148 兵庫県佐用郡佐用町光都 1-1-1
1-1-1 Kouto, Sayo, Hyogo 679-5148, Japan
e-mail: yone@spring8.or.jp
最終学歴：東京工業大学大学院バイオサイエンス
研究科 博士（理学）
専門分野：生物物理学、構造生物学
現在の研究テーマ：低温電子顕微鏡法による生体
超分子の構造解析、および解析法の開発
趣味：古代史、デジ