蛋白質の原子分解能構造解析

○中根崇智、山下恵太郎

(MRC-LMB)

低温電子顕微鏡(クライオ EM)を用いた単粒子解析法による生体高分子の構造決定はこの十年で飛躍的な進歩を遂げた。残念ながら、その過程では「原子分解能」という言葉がしばしば濫用され、3 Å 程度の分解能のマップですら「原子分解能」と形容されることがあった。しかし、生体高分子の機能を化学のレベルで議論するためには、原子一つ一つが分離して見えるという真の意味での原子分解能 (George Sheldrick の基準では 1.2 Å) を達成し、正確な原子座標を決定し、水素や溶媒を可視化することが重要である。我々は昨年 Thermo Fisher Scientific との共同研究で、同社の新型電子顕微鏡を用いることにより、モデル蛋白質であるアポフェリチンを分解能 1.22 Å で構造決定することに成功した (Nakane *et al. Nature*, 2020)。この顕微鏡には、低温電界放出電子銃(Cold FEG)・安定性の高いエネルギーフィルタ Selectris X・高い検出量子効率 DQE と高速撮影を両立させた Falcon4 直接電子検出器が搭載されている。なかでも Cold FEG は、エネルギー広がり的小さい、すなわち単色性の高い電子ビームを発生するので、色収差によるコントラスト伝達関数(CTF)の包絡関数の減衰を抑えることができ、高分解能情報の収集に重要であった。

また、高分解能の達成にあたってはデータ処理にも細心の注意が必要であった。低～中分解能領域では問題とならないパラメータのわずかな誤差でも致命的な影響を及ぼすうえ、それまでは成立していた近次が破綻するためである。筆者の所属グループで開発している RELION の新機能、とくに高次収差の推定と補正・

Ewald 球曲率を考慮した三次元再構成法の利用が不可欠であった。

こうして得られたマップでは、ほとんどの原子が分離した球として観察された。また、水素を含まない原子モデルから計算したマップと実験的に得られたマップとの差を計算することで、水素を可視化することもできた。

続いて、より現実的かつ難易度が高い試料として、ヒトの膜蛋白質で抗不安薬などの標的イオンチャネルである GABA_A 受容体の構造解析も行った。原子分解能には及ばなかったものの 1.7 Å に到達し、リガンド結合様式の詳細を観察することができた。また、局所分解能が 1.6 Å であるコア部分においては差マップで水素原子を確認することができた。

最近では、他グループからも 2 Å を超える高分解能マップが多数発表されている。均一性が高く「素性がよい」試料については、単粒子解析法で化学の議論に耐えうる構造決定が可能になったと言えるであろう。

アポフェリチンのマップ。水素をオミットした $F_0 - F_c$ 差マップ(緑)では、水分子の水素も見えている。