

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 18 日現在

機関番号： 84502
 研究種目： 基盤研究(C)
 研究期間： 2010～2012
 課題番号： 22540424
 研究課題名（和文） コヒーレントX線と計算機実験の融合利用による生体分子-水界面構造の解明
 研究課題名（英文） Simulation Study of Coherent X-ray Diffraction from Biomaterial Solution
 研究代表者
 城地 保昌（JOTI YASUMASA）
 公益財団法人 高輝度光科学研究センター・XFEL 研究推進室・研究員
 研究者番号： 30360415

研究成果の概要（和文）： X線自由電子レーザー施設 SACLA のコヒーレント回折イメージング実験により生体溶液中の生体物質構造を解析するための計算手法を開発した。開発した手法は、SACLA 利用実験データの解析に生かされ、数百ナノメートルのサイズをもつ溶液内の“生きた”バクテリアのイメージングに貢献した。

研究成果の概要（英文）： Emerging X-ray free-electron lasers with femtosecond pulse duration enable single-shot snapshot imaging almost free from radiation damage. We have developed a methodology to analyze X-ray laser diffraction data from biomaterial solution. The method was used for analyzing the coherent diffraction patterns from a sub-micrometer-sized intact cell, measured at an X-ray free-electron laser facility, SACLA.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：物理学、生物物理・化学物理

キーワード：X線回折顕微法、コヒーレントX線、生物物理、水和構造

1. 研究開始当初の背景

生体物質は、環境媒体である水中で機能する。生体物質の機能を物理化学的に理解するには、生体物質-水界面の構造物性を解明することが不可欠である。近年、X線小角散乱や分子シミュレーション等により、生体分子表面水がバルク水とは異なる物性をもつことが明らかになってきた。しかしながら、機能発現状態の生体物質-水界面の構造を、実験的に高分解能で観察した報告は、ほとんどない。

X線回折顕微法は、干渉性の高い(コヒーレント)X線を用いることにより、試料の結晶化を要さず、回折強度から単粒子の電子密度分布を再生する斬新な手法である。回折波の複素振幅は、試料の電子密度分布のフーリエ変換で与えられるが、観測可能な物理量は強度のみで、位相は直接測定できない。X線回折顕微法では、計算科学的手法により位相を回復し、電子密度分布を再生する。今後、X線自由電子レーザー(XFEL)などの研究開発によりX線光源が進化し、分解能等が向上すれ

ば、結晶化困難な膜蛋白質等の構造解析が期待される。

2. 研究の目的

本研究では、XFEL 施設 SACLA の完成により、今後発展が期待される X 線回折顕微法と高精度計算科学を相補的に組み合わせることにより、生体物質-水界面の構造物性を高分解能で解明するための方法論を開発することを目的とした。このような手法が確立されれば、生体物質表面での化学反応メカニズムの解明等が飛躍的に進むと期待され、これにより新たな生物物理学への道を切り拓く。

また、本研究では、開発したソフトウェアを利用して、実際の XFEL 利用実験データを開発することも目的とした。

3. 研究の方法

本研究は、(1)計算機シミュレーションによる生体物質のコヒーレント回折強度の見積とその結果に基づく測定法の提案、(2)位相回復法を含むコヒーレント回折パターン解析手法の高度化、(3)開発した手法の SACLA 利用実験手法への適用、の3段階からなる。

生体物質のモデル構造から SACLA 利用実験の回折強度をシミュレートするソフトウェアを開発し、(1)の研究を遂行した。また、現在広く使われている位相回復手法である HIO 法をその原理から見直し、高度化を進めた(2)。さらに(1)(2)の研究成果を(3)へと発展させた。

4. 研究成果

課題期間中に次の成果を得た。

(1) 測定法の提案

溶液中のリボソームの低分解能(~2nm)イメージングを実現するために必要な実験条件を、計算機実験を援用して見積もった。具体的には、リボソーム溶液の粗視化モデルを用いて、溶液中の複数粒子に XFEL を照射したときの2次元回折画像のシミュレーションを行った。ここでは、検出の際のポアソンノイズ等、実験で想定される影響をシミュレーションに含めた。次に、2次元回折像から実像を得るための手法である Shrink-wrap HIO 法を応用し、回折画像の計算値から2次元実像の回復シミュレーションを実行した。その結果、リボソーム溶液の2次元イメージングが、100nm に集光した XFEL による溶液散乱実験で実現可能であることが明らかになった。つまり、XFEL を利用することにより、30nm サイズのリボソームの溶液構造を 2nm の分解能で解析することが可能とな

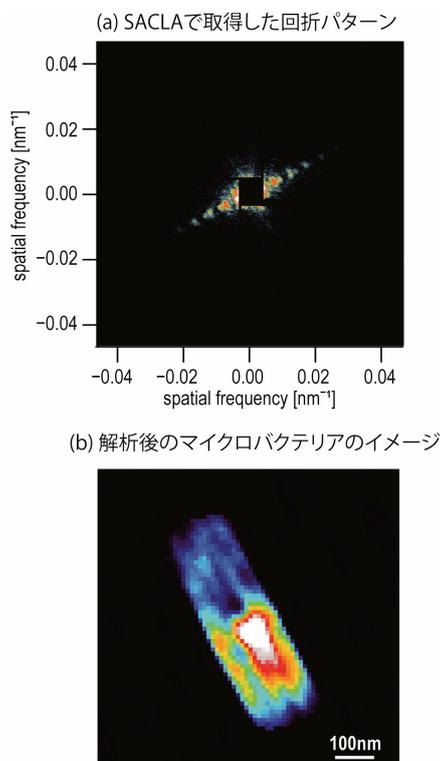
ることを示した。

(2) 位相回復法の高速化

X 線回折実験では、立体構造を解析するために必要な位相が測定されない。そのため、X 線回折顕微法では、フーリエ変換を繰り返し利用した計算科学的手法により、位相情報を回復する。3次元フーリエ変換では大きな実行メモリが必要になり、また、3次元フーリエ変換を効率的に分散並列処理するのは難しい。本研究では、フーリエ変換ではなく、位相回復法そのものを並列化することにより、計算ノードあたりの実行メモリを減らし、高速化する手法を開発した。本手法は、現在主流の分散並列型コンピュータに適したものである。

(3) SACLA 利用実験データへの適用

パルス状コヒーレント X 線溶液散乱(PCXSS)実験により、北海道大学の西野吉則教授等が成し遂げた、数百ナノメートルのサイズをもつ溶液内の“生きた”マイクロバクテリアのイメージング(T. Kimura, Y. Joti, et al., 投稿中)に貢献した。具体的には、本研究課題により開発したモデル構造の回折像シミュレータを用いて、西野教授らが SACLA の利用実験で取得した回折パターンが、溶液中の約200ナノメートルの幅をもつマイクロバクテリア1個からのものであることを検証した。また、本研究課題により開発した位相回復ソフトウェアを利用して、この回折像から約37nm分解能の2次元イメージングに成功した(図)。



以上のように、平成 24 年度までに、本研究課題で開発したソフトウェアを用いて、当初の目標であった SACLA 実験データの解析による溶液中生体物質の構造解析を達成することが出来た。一方で、現在一般に用いられている位相回復法は、実際の実験データに適応するには不完全であることも明らかになった。本課題終了後の重要な課題は、現実に即した位相回復法の高度化などにより、実験から得られるシグナルを最大限生かしたイメージング手法の開拓である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① 前島 一博, 城地 保昌, 西野 吉則, 高田 英昭, 鎌田 福美, 日原 さえら, ヒトゲノム DNA の不規則で柔軟な収縮原理, 日本生物物理学学会誌, 53, 004-010, 2013, 査読有, https://www.jstage.jst.go.jp/article/biophys/53/1/53_004/_pdf
- ② Y. Joti, T. Hikima, Y. Nishino, F. Kamda, S. Hihara, H. Takata, T. Ishikawa and K. Maeshima, Chromosomes without a 30-nm chromatin fiber, *Nucleus* 3:5, 404-410, 2012, 査読有, doi: 10.4161/nucl.21222
- ③ T. Ishikawa, H. Aoyagi, T. Asaka, Y. Asano, N. Azumi, T. Bizen, H. Ego, K. Fukami, T. Fukui, Y. Furukawa, S. Goto, H. Hanaki, T. Hara, T. Hasegawa, T. Hatsui, A. Higashiya, T. Hirono, N. Hosoda, M. Ishii, T. Inagaki, Y. Inubushi, T. Itoga, Y. Joti, M. Kago, T. Kameshima, H. Kimura, Y. Kirihara, A. Kiyomichi, T. Kobayashi, C. Kondo, T. Kudo, H. Maesaka, X. M. Maréchal, T. Masuda, S. Matsubara, T. Matsumoto, T. Matsushita, S. Matsui, M. Nagasono, N. Nariyama, H. Ohashi, T. Ohata, T. Ohshima, S. Ono, Y. Otake, C. Saji, T. Sakurai, T. Sato, K. Sawada, T. Seike, K. Shirasawa, T. Sugimoto, S. Suzuki, S. Takahashi, H. Takebe, K. Takeshita, K. Tamasaku, H. Tanaka, R. Tanaka, T. Tanaka, T. Togashi, K. Togawa, A. Tokuhisa, H. Tomizawa, K. Tono, S. Wu, M. Yabashi, M. Yamaga, A. Yamashita, K. Yanagida, C. Zhang, T. Shintake, H. Kitamura and N. Kumagai, A compact X-ray free-electron laser emitting in the sub-ångström region, *Nature Photonics*, 6, 540-544, 2012, 査読有, doi:10.1038/nphoton.2012.141
- ④ Y. Nishino#, M. Eltsov#, Y. Joti#, K. Ito#, H. Takata, Y. Takahashi, S. Hihara, A. S. Frangakis, N. Imamoto, T. Ishikawa and K. Maeshima, Human mitotic chromosomes consist predominantly of irregularly folded nucleosome fibres without a 30-nm chromatin structure, *EMBO J.*, 31, 1644-1653, 2012, 査読有, doi: 10.1038/emboj.2012.35, # *equally contributed*.
- ⑤ 矢橋 牧名, 城地 保昌, X 線自由電子レーザー施設 SACLA と次世代スパコン京の連携による生命科学研究と微小結晶構造解析, 内分泌・糖尿病・代謝内科, 35, 565-571, 2012, 査読無 <http://jglobal.jst.go.jp/public/2009042/2/201302209745167757>
- ⑥ 田中 均, Arnaud Amselem, 青柳 秀樹, 安積 隆夫, 浅野 芳裕, 安積 則義, 石井 健一, 石井 美保, 石橋 一憲, 糸賀 俊朗, 稲垣 隆宏, 犬伏 雄一, 井上 忍, 惠郷 博文, 大島 隆, 大竹 雄次, 大橋 治彦, 大端 通, 小竹 拓也, 小野 峻, 甲斐 智也, 籠 正裕, 亀島 敬, 家納 寛, 木村 洋昭, 桐原 陽一, 清道 明男, 工藤 統吾, 小林 和生, 小林 利明, 近藤 力, 後藤 俊治, 呉 樹奎, 櫻井 辰幸, 佐治 超爾, 佐藤 堯洋, Xavier Marechal, 白澤 克年, 城地 保昌, 杉本 崇, 鈴木 伸介, 清家 隆光, 高橋 直, 武部 英樹, 竹下 邦和, 田尻 泰之, 田中 信一郎, 田中 隆次, 田中 良太郎, 張 超, 塚本 宜史, 富樫 格, 渡川 和晃, 富澤 宏光, 登野 健介, 成山 展照, 初井 宇記, 花木 博文, 原徹, 長谷川 太一, 長谷川 照晃, 広野 等子, 備前 輝彦, 深見 健二, 福井 達, 古川 行人, 細田 直康, 前坂 比呂和, 前田 大輔, 前田 雄亮, 益田 邦和, 町田 武彦, 松井 佐久夫, 増田 剛正, 松下 智裕, 松原 伸一, 松本 崇博, 南 潤一朗, 森永 拓也, 矢橋 牧名, 柳田 謙一, 山鹿 光裕, 山下 明広, 山下 雅史, 山本 龍, 新竹 積, 北村 英男, 熊谷 教孝, 石川 哲也, X 線自由電子レーザー、SACLA のコミッションングと実現された光源性能, 日本加速器学会誌「加速器」, 9, 60-71, 2012, 査読無, <http://jglobal.jst.go.jp/public/2009042/2/201202255098016231>
- ⑦ 初井 宇記, 亀島 敬, 小野 峻, 桐原 陽一, 工藤 統吾, 小林 和生, 遠茂谷 誠彦, 尾崎 恭介, 城地 保昌, 徳久 淳師, 堀米 利夫, 山鹿 光裕, 古川 行人, 清道 明男, 杉本 崇, 広野 等子, 大端 通, Arnaud Amselem, 田中 良太郎, 検出器・データ取得システム・実験機器制御・解析, 日

本放射光学会誌「放射光」, 25, 82-88
2012, 査読無,
<http://jglobal.jst.go.jp/public/20090422/201202277526333887>

- ⑧ M. Yamaga, A. Amselem, T. Hirono, Y. Joti, A. Kiyomichi, T. Ohata, T. Sugimoto, R. Tanaka, T. Hatsui, Event-Synchronized Data Acquisition System of 5 Giga-bps Data Rate for User Experiment at the XFEL Facility SACLA, *Proceedings of ICALEPCS2011*, Art. Number TUCAUST06 (2011), 査読無,
<http://accelconf.web.cern.ch/accelconf/calepcs2011/papers/tucaust06.pdf>
- ⑨ T. Sugimoto, Y. Joti, T. Ohata, R. Tanaka, M. Yamaga, T. Hatsui, Large-Bandwidth Data Acquisition Network for XFEL Facility, SACLA, *Proceedings of ICALEPCS2011*, Art. Number WEBHAUST03 (2011), 査読無,
<http://accelconf.web.cern.ch/accelconf/calepcs2011/papers/webhaust03.pdf>
- ⑩ S. Sakuraba, Y. Joti and A. Kitao, Detecting coupled collective motions in protein by independent subspace analysis, *J. Chem. Phys.*, 133, 185102, 2010, 査読有, doi: 10.1063/1.3498745

[学会発表] (計 13 件)

- ① 亀島 敬, 小野 峻, 尾崎 恭介, 桐原 陽一, 工藤 統吾, 小林 和生, 堀米 利夫, 初井 宇記, 矢橋 牧名, 山鹿 光裕, 古川 行人, 阿部 利徳, 杉本 崇, 城地 保昌, 田中 良太郎, SACLA 用 Multi-port CCD 検出器システムの概要, 第 26 回日本放射光学会年会放射光化学合同シンポジウム (2013 年 1 月 12-14 日, 名古屋大学)
- ② 木村 隆志, 別所 義隆, 城地 保昌, 西野 吉則, パルス状 X 線溶液散乱法による溶液中試料構造の解析, 第 26 回日本放射光学会年会放射光化学合同シンポジウム (2013 年 1 月 12-14 日, 名古屋大学)
- ③ 城地 保昌, SACLA におけるコヒーレント回折イメージング手法の開発, 第 18 回ビジュアライゼーションカンファレンス (2012 年 12 月 3 日, タイム 24 ビル)
- ④ Y. Joti, Towards Synergistic Use of SACLA and K Computer for Bio-Molecular Imaging, 5 th International Workshop on FEL Science (Oct. 28 - Nov. 1, 2012, Gyeongju, Korea)
- ⑤ 徳久 淳師, 城地 保昌, 河野 秀俊, 郷 信広, XFEL を用いた 3 次元分子イメージ

ングのための雑音下における 2 次元回折像の類似度自動同定, 第 50 回日本生物物理学会年会 (2012 年 9 月 22-24 日, 名古屋大学・東山キャンパス)

- ⑥ 城地 保昌, 大規模 XFEL データ解析による生体超分子イメージング, データ工学研究会 (DE) (2011 年 12 月 16 日, 京都産業大学)
- ⑦ Y. Joti, Simulation study to examine the possibility of high-resolution biomolecular imaging with XFEL, 第 34 回分子生物学会年会ワークショップ Atomic resolution dynamics revealed by state of the art technologies (2011 年 12 月 14 日, パシフィコ横浜)
- ⑧ A. Tokuhisa, T. Kai, H. Kono, Y. Joti and N. Go, Estimation of attainable structural resolution by 3D imaging of biomolecules using X-ray free electron lasers, 第 49 回日本生物物理学会年会 (2011 年 9 月 18 日, 兵庫県立大学・姫路書写キャンパス)
- ⑨ 城地 保昌, XFEL と HPC の融合利用による生体超分子イメージング, 物性研究所 計算物質科学研究センター第 1 回シンポジウム (2011 年 9 月 12 日, 東京大学物性研究所)
- ⑩ Y. Joti, Simulation Study to Examine the Possibility of High-resolution Biomolecular Imaging with SACLA, 4 th International Workshop on FEL Science (Aug 29 - Sep 2, 2011, Cairns, Australia)
- ⑪ Y. Joti, Development of XFEL applications at SPring-8, 2011 Annual Meeting of the Physical Society of ROC, Symposium "New Light Source" (Jan 25-27, 2011, Taipei, Taiwan)
- ⑫ 城地 保昌, 初井 宇記, 石川 哲也, XFEL と HPC の融合利用による生体超分子イメージング, 「次世代スーパーコンピューティング・シンポジウム 2010 および第 1 回戦略プログラム 5 分野合同ワークショップ」(2011 年 1 月 17 日, ニチイ学館 神戸ポートアイランドセンター)
- ⑬ Y. Joti, Towards Utilizations of SPring-8 XFEL, 2010 Australian Synchrotron User Meeting (Nov 22-24, 2010, Melbourne, Australia)

[その他]

ホームページ等
<http://sacla.xfel.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

城地 保昌 (JOTI YASUMASA)

高輝度光科学研究センター・XFEL 研究推進
室・研究員
研究者番号：30360415

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし