

令和元年6月19日現在

機関番号：84502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K05527

研究課題名(和文) X線レーザー回折による機能構造モデリング法の開拓

研究課題名(英文) Structure modeling of biological particles from X-ray laser diffraction patterns

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利用研究推進室・主幹研究員

研究者番号：30360415

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：生命現象を理解するには、構成要素である生体粒子が機能を発現している状態の構造をとらえることが不可欠である。超短パルスのX線レーザーを利用したコヒーレントX線回折イメージングは、ナノメートルからマイクロメートルのスケールで起こる生命現象を解き明かすポテンシャルをもつ。本研究では、その実現のために、X線レーザー回折で得られる2次元スナップショットから、生体粒子の構造をモデリングする手法を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

コヒーレント回折イメージングでは、コンピュータによる位相回復計算により実験画像から試料像を再生する。広く利用されている位相回復アルゴリズムは、実験データの質によっては複数の解を与える場合があり、その信頼性に問題があった。本研究では、コヒーレント回折イメージングに、構造モデリングという別の解析アプローチを提示することが出来た。

研究成果の概要(英文)：To understand life phenomena, it is important to image function-related structures of biological particles. Coherent X-ray diffraction imaging with ultrafast X-ray laser has potential to reveal life phenomena in the range of nanometer to micrometer. To realize that, we have developed a methodology for structure modeling of biological particles from X-ray laser diffraction pattern.

研究分野：計算生物物理学

キーワード：XFEL コヒーレント回折イメージング 構造モデリング

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

生命現象を理解するには、構成要素である生体粒子の“形”と“動き”を捉えることが不可欠である。XFEL 施設 SACLA で得られる 10 フェムト秒以下という超短パルスの大強度 X 線を利用すると放射線による損傷を受ける前の一瞬の物質の姿をナノレベルで捉えることが出来る。SACLA の X 線レーザー回折実験は、生体粒子が機能発現状態にある構造を解き明かすポテンシャルを持つ。

コヒーレント X 線回折イメージング(CXDI)は、回折パターンから計算機を用いた位相回復により単粒子の電子密度分布を再生する手法である。位相回復には HIO 法とその変法が、その収束性の良さから広く利用されている。HIO 法は、理想的な回折パターンに対しては非常に有効な手段であるが、一方で、検出ノイズ、寄生散乱、検出器の不感領域等が含まれる実験データを扱う場合、問題の程度によって不安定な挙動を示す場合がある。

### 2. 研究の目的

X 線レーザー回折ではフェムト秒の時間間隔で切り取られた 2 次元スナップショットが得られる。3 次元の試料像を再生するには、多数の 2 次元回折パターンを 3 次元にマップし平均する方法が考えられるが、平均像では構造多形の情報が失われてしまう。本研究では、位相回復法の欠点を補い、X 線レーザー回折で得られる 2 次元スナップショットから、生体粒子構造をモデリングし、機能に関わる構造情報を抽出する方法論を開発することを目的とする。

### 3. 研究の方法

本研究では、生体超分子の原子構造(結晶構造)からシミュレートした回折パターンをターゲットとし、試料構造を球や楕円球など解析的に扱えるモデル粒子の集合体として記述(モデリング)して再現できるか計算機シミュレーションにより検証した。また、モデル構造の精密化計算では初期配置に結果が依存するため、初期モデル構築に資する、2 次元電子密度精密化法の開発も行った。

### 4. 研究成果

課題期間中に次の成果を得た。

(1) 生体粒子の原子モデルから溶液試料の回折パターンをできる限り実験に近い条件でシミュレートするソフトウェアを開発し、約 30nm の大きさをもつ 70S リボソーム溶液の回折パターンを、粒子の方位を変えて複数計算した。さらに、リボソームを数 nm の球の集合体として表す疎視化モデル(図 1)を構築し、そのモデル構造を用いてリボソーム溶液の回折パターンを、原子モデルと同じ粒子配向で計算した。計算した回折パターン原子モデルと疎視化モデルで比較したところ、5nm 分解能ではほぼ一致したが、2-5nm の分解能領域で差が見られた。

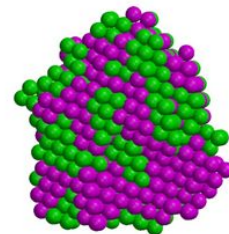


図 1 球の集合体として表した 70S リボソームの例

そこで、構築した疎視化モデルの球配置を初期値として、原子モデルから計算した回折パターンに合うような球配置を求める、モデル構造の精密化ソフトウェアの開発を行った。具体的には、球の配置ベクトル  $\mathbf{r}$  の関数として、次の目的関数  $\Delta(\mathbf{r})$  を最小化する実験データの解析法を開発した。

$$\Delta(\mathbf{r}) = \sum_{\text{pixels}} |[\text{実験回折強度}] - [\text{モデル回折強度}](\mathbf{r})|^2$$

最小化アルゴリズムとしては、最急降下法と共役勾配法を採用した。計算機シミュレーションにより、その有効性を確認したところ、ノイズ等が大きい場合には、特に X 線照射方向の粒子位置の最適化が難しいことが分かった。そこで、粒子位置の既知情報の制約を付け加えるためのモジュールを追加した。さらに疎視化粒子を球状以外のものにも拡張するために、生体粒子の電子密度を異方的なガウシアン集合体としてモデリングした場合に、回折パターンを精度よく再現できることを確認した。

(2) モデル構造の精密化では、疎視化粒子の初期配置に結果が依存する。そこで、初期配置の確度を向上させるために、位相回復結果である 2 次元電子密度を精密化する手法の開発も行った。具体的には、ベイズ推定を利用することで、回折パターンに対して最も確からしい電子密度を精密化する。計算機シミュレーションで、この電子密度精密化法が有効であることを確認した(図 2、投稿準備中)。

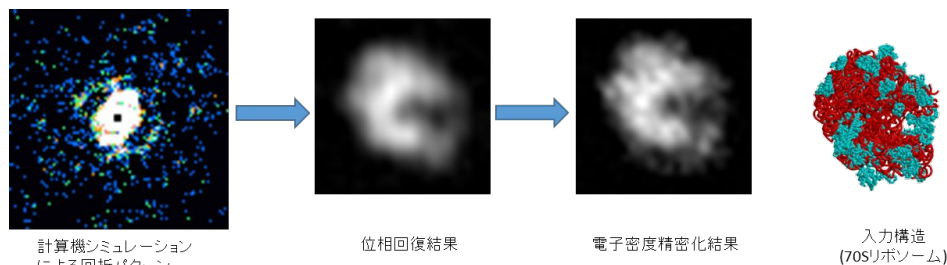


図2 2次元電子密度の精密化

(3) 本研究で開発したモデリング手法を、実際にSACLAの実験データの解析に適用に向けて、XFEL施設SACLAのナノビームコヒーレント回折イメージング装置(MAXIC-S)の実験高度化のための計算機シミュレーションを行った。MAXIC-Sを利用して、北大の西野教授らが開発したパルス状コヒーレントX線溶液散乱(PCXSS)の予備実験をした結果、パルスエネルギーは100 $\mu$ J程度に留まり、PCXSS法で用いる試料フォルダMLEAからのバックグラウンド散乱が大きいことが分かった。そこで、パルスエネルギーを100 $\mu$ Jに設定し、粒子数を変えて回折パターンシミュレーションを実行したところ、MLEAのバックグラウンドノイズを考慮すると、現状の実験ではXFELの視野の中に100Sリボソームが22個ある場合に何とかシグナルが取れることが分かった。さらに、PCXSS実験でXFEL視野内の100Sリボソームの個数を22個程度に調整した試料からのシグナルを検出することに成功した(図3)。しかし、MLEAのバックグラウンド散乱および視野の中の粒子数が多すぎる等から、これ以上のイメージング解析には至っていない。今後は、MLEAのバックグラウンド低減など、良質データの取得に向けて実験を継続する予定である。

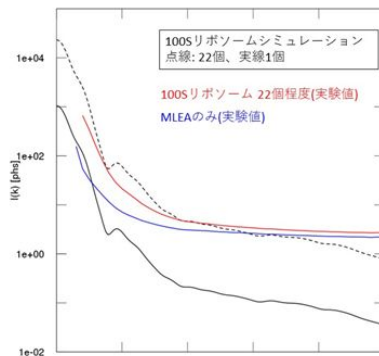


図3 実験回折強度とシミュレーションの比較

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計 5 件)

- T. Nagai, Y. Mochizuki, Y. Joti, F. Tama, O. Miyashita, Gaussian mixture model for coarse-grained modeling from XFEL, *Opt. Express*, 査読有, 26, 26734-26749, 2018, doi: 10.1364/OE.26.026734
- M. Nakano, O. Miyashita, S. Jonic, C. Song, D. Nam, Y. Joti, and F. Tama, Three-dimensional reconstruction for coherent diffraction patterns obtained by XFEL, *J. Synchrotron Rad.*, 査読有, 24, 727-737, 2017, doi: 10.1107/S1600577517007767
- 西野吉則, 木村隆志, 鈴木明大, 城地保昌, 別所義隆, SACLA を用いた環境制御ナノイメージング, *レーザー研究*, 査読無, 45, 508-512, 2017, <https://ci.nii.ac.jp/naid/40021307643>
- O. Miyashita, Y. Joti, X-ray Free Electron Laser Single Particle Analysis for Biological Systems, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 査読有, 43, 163-169, 2017, doi: 10.1016/j.sbi.2017.03.014
- 西野吉則, 木村隆志, 鈴木明大, 城地保昌, 別所義隆, SACLA を用いたコヒーレントイメージング, *日本結晶学会誌*, 査読無, 59, 18-23, 2017, doi: 10.5940/jcrsj.59.18

### 〔学会発表〕(計 15 件)

- 木村円香, 鈴木明大, 木村隆志, 三友秀之, 城地保昌, 別所義隆, 居城邦治, 西野吉則, がん治療用 pH 応答金ナノ粒子の X 線レーザーによる液中ダイナミクス観察, 第 32 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム, 2019
- 鈴木芳幸, 鈴木明大, 木村隆志, 三友秀之, 城地保昌, 別所義隆, 居城邦治, 西野吉則, X 線自由電子レーザーを用いたポンプ・プローブコヒーレント回折イメージング法の開発, 第 32 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム, 2019
- 橘健朗, 山崎憲慈, 鈴木明大, 木村隆志, 城地保昌, 別所義隆, 郷原一寿, 西野吉則, グラフェンに担持した白金ナノ粒子の X 線レーザー回折測定に向けた試み, 第 32 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム, 2019
- H. Yumoto, T. Koyama, T. Kimura, A. Suzuki, T. Kameshima, Y. Joti, K. Tono, N. Tani,

T. Tachibana, Y. Konishi, Y. Bessho, Y. Nishino, M. a Yabashi, H. Ohashi, High-fluence x-ray focusing optics for high-resolution coherent diffractive imaging using X-ray free electron laser, SRI2018, 2018

T. Koyama, H. Yumoto, T. Kimura, A. Suzuki, T. Kameshima, Y. Joti, K. Tono, N. Tani, T. Tachibana, Y. Konishi, Y. Bessho, Y. Nishino, M. Yabashi, H. Ohashi, Development of Multilayer Focusing Mirror System for XFEL CDI Experiments of Biological Particles, XRM2018, 2018

湯本博勝, 小山貴久, 木村隆志, 鈴木明大, 亀島敬, 城地保昌, 登野健介, 谷直哉, 橋健朗, 小西祐輔, 別所義隆, 西野吉則, 矢橋牧名, 大橋治彦, SACLA における高分解能コヒーレント回折イメージングのための超高密度集光光学系の開発 顕微システムの構築と集光ビームの評価, 第 31 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム, 2018

小山貴久, 湯本博勝, 木村隆志, 鈴木明大, 亀島敬, 城地保昌, 登野健介, 谷直哉, 橋健朗, 小西祐輔, 別所義隆, 西野吉則, 矢橋牧名, 大橋治彦, SACLA における高分解能コヒーレント回折イメージングのための超高密度集光光学系の開発 多層膜ミラー光学系の評価, 第 31 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム, 2018

木村円香, 楊影, 木村隆志, 鈴木明大, 城地保昌, 森屋利幸, 大島泰郎, 別所義隆, 西野吉則, X 線レーザー回折による生細胞の温度制御イメージング, 第 31 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム, 2018

鈴木明大, 木村隆志, 飯田良, 三友秀之, 城地保昌, 別所義隆, 新倉謙一, 居城邦治, 西野吉則, 線レーザー回折による温度応答性金ナノ粒子の溶液中イメージング, 第 31 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム, 2018

木村隆志, 鈴木明大, 三友秀之, 城地保昌, 居城邦治, 別所義隆, 西野吉則, インクジェットを利用した微量液体試料の X 線自由電子レーザーイメージング技術の開発, 第 31 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム, 2018

Y. Joti, Biological applications of X-ray laser diffraction at SACLA, Workshop on “Advances in Structural Biology and Beyond”(招待講演), 2017

鈴木明大, 橋健朗, 谷直哉, 城地保昌, 別所義隆, 木村隆志, 西野吉則, パルス状コヒーレント X 線溶液散乱法による 3 次元イメージングに向けて, 第 30 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム, 2017

谷直哉, 木村隆志, 鈴木明大, 城地保昌, 別所義隆, 西野吉則, X 線レーザー回折イメージングのための脂質膜マイクロチャンバーの開発, 第 30 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム, 2017

Y. Joti, Imaging live cell at nanoscale by X-ray laser diffraction, 第 54 回生物物理学会年会 BJS-ASB Joint Symposium “Live cell imaging”(招待講演), 2016

城地保昌, X 線自由電子レーザー施設 SACLA による生命科学の現状と大規模データ解析, 第 16 回蛋白質科学学会年会ワークショップ「生命分子計測のスパースモデリング」(招待講演), 2016

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

<https://researchmap.jp/read0193077/>

## 6. 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。