

令和元年5月29日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H02218

研究課題名(和文) コヒーレントX線回折による酵母核内の核酸分布イメージング

研究課題名(英文) Visualization on the distribution of nucleic acids in yeast nucleus by using coherent X-ray diffraction

研究代表者

中迫 雅由 (Nakasako, Masayoshi)

慶應義塾大学・理工学部(矢上)・教授

研究者番号：30227764

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,300,000円

研究成果の概要(和文)：シンクロトロン放射光を用いた低温X線回折イメージング・トモグラフィーと、X線自由電子レーザーを用いた低温X線回折イメージングにおける試料作製および実験装置の高度化をおこなうとともに、新たな構造解析法を考案した。それらをもとに、バクテリア細胞や酵母細胞核の普遍的な内部構造などを可視化するとともに、バクテリア細胞や酵母細胞の三次元構造解析を行い、生体非結晶粒子の非侵襲イメージングを確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低温X線回折イメージング・トモグラフィー実験では、細胞個々の特性や細胞周期に応じた物質分布の変化を、一方、XFELを用いるX線回折イメージング実験では、大量の細胞試料の投影電子密度を得ることが可能となった。本課題の研究成果は、シンクロトロン放射光とX線自由電子レーザーを相補的利用によって、細胞の個性と多様性を見ることにつながり、他のイメージング手法では成しえない非侵襲的イメージングの大きな進展につながることを期待できる。今後、本手法が細胞イメージングの重要な柱の一つとなるだけでなく、非結晶金属ナノ材料試料の構造研究にも裾野を広げていくと期待できる。

研究成果の概要(英文)：In this project, we improved fundamental techniques including automatic control procedures of diffraction apparatuses, preparation of frozen-hydrated biological specimens, and measurement of spatial coherence of X-ray beam, in cryogenic X-ray diffraction imaging tomography using synchrotron X-rays and cryogenic X-ray diffraction using X-ray free electron laser pulses. In addition, we developed methods to obtain reliable electron density maps in phase retrieval calculation in structure analyses including the utilization of manifold learning. Based on these developments, we successfully established X-ray diffraction imaging technique for non-crystalline biological specimens, such as cells and organelles, through the visualization of common structures in yeast nucleus and cyanobacterium cell as well as the three-dimensional structures of yeast and bacteria cells without sectioning and chemical labeling necessary in other imaging techniques.

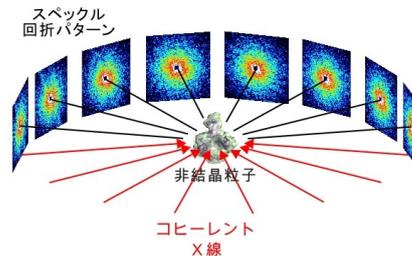
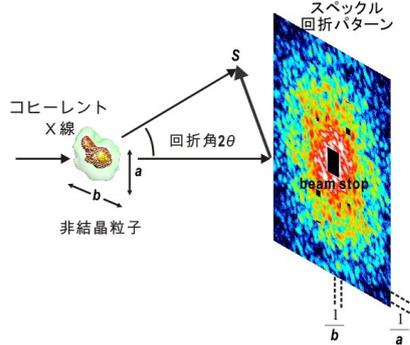
研究分野：生物物理学

キーワード：X線回折イメージング 放射光 X線自由電子レーザー 低温X線回折実験 位相回復 三次元再構成
細胞核 細胞非侵襲イメージング

(EMXb18B0(b)g/S4kRb11
 1vSMb0iMG6 □.2A □ ((b)g/S4N □ □ 6brrb
 09MGSKK8)6(x □ □ 09KSCV2A68IMB7ELsb60q09A N.□
 8 □ 6E812AITS/(b)K0b □ 1 μm 100 nm Mb00b3M26d68 □
 677K(S4E) □ 6 □ □

0j2b18
 5006#H150K8M786k86 □
 Kv □ (□ □ 54b) (xgE(188 □ □ 2 LAPM □
 M)zbSB46S60iKUsb67b'g/S40 □ □ X-ray free electron laser: XFEL □ 98d(11)z □
 6G(1K1)z7 □ □ X-ray diffraction imaging: XDI □ □ □
 8 □ (M)zG □ □ 100 nm 2z(00iMG □ □ KS □
 (b7u □ □ 4 □ (x □ □

1j2b2
 XDI ε8S □ '56b98 (V)z □) □ 0q(UK
 G4(3618b) □ G24K □
 UV)zεKS0q7GM □ □ 1 e □ 9EM)z □
 1M08bE67Gε0/6106 □
 KK0qxH1b11MGCS406 □ rS0 □
 UV)zPKG3IOG4p7K □ backprojection 2 □
 0q7(xbUSB6 □ □ 1 □ □



□ 1 XDI 9b
 0E □
 b □
 6 □
 6 □ XFEL-XDI
 εXb(□
 X8 □
 9E □
 M(G3K □
 G4E □
 7M □

2j2B □ □ 1 □
 2j4 □ XDI 9 □ 9 □ b □
 G □ □ 8) (bS48u000iM □
 /(6K □ □ 12E □ □ 99 □
 'g K1vK87 □ □ KS □

XDI 24/MSub9 □
 p7M □ Su □ UXB/11

2j4 □ □ □ 0q 80b9 □ □ □ 6, 10 □
 0qεD □ □ 5 □ □ 10Mq(11MSub(4h □ □ poly-lysine
 (PLL) K1SE(4wV0q □ 6 □ □ 5k)/13

D4)5 □ □ K# □
 3)M □ □ 2 □
 XFEL-XDI □ □ b □
 M □ b Su □ 7 (□ /10×10 μm²
 b98kK □ □ S □ □
 εM)z2M(M □ □
 □ □ focused ion beam □ □
 0KSp0q(Cm8p'gK □
 S □ □ 12E □ □ 6827 □
 426 K □ □)b0q □
 0i □ KSG □ □ 10q □
 bDE □ □ AMIOG □ □
 BKS □ □

for SR XDI tomo

for XFEL-XDI

□ 2 10q8Bm8pgK1S6×
 82742610q09p □

XFEL-XDI 900 30 Hz j) 50 μm/33 ms

1, 6, 11 XFEL CMS

0q

40A81 DJ4DMOK 8SD8BKS XDI

8: G@DMS

12 b0q SACLA b3 Program Logic Controller

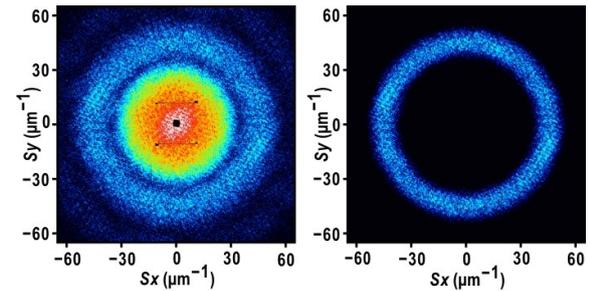
)z)(1b)(G7#B30q(7S)(b) S67#B36DXb8)BM64 OKG/(bD)B3 TGE) 86M

9 0q (M)G3BHjUV

IOp7KS

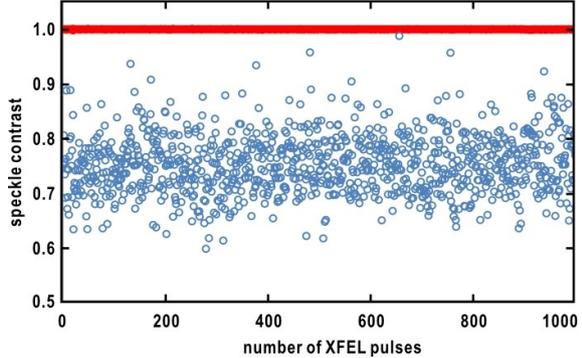
2) 0 XFEL b56 XFEL 0 SACLA 0 00S XFEL b56 30Hz j) HGK C06M 20 K S 2014 SACLA b2 XFEL b56

06 10 4, 10



8 1.0 M SACLA 0.7 K8KS

2E GKC'56 0b'v S(K M6KS /0i5) G2 K 7KS5

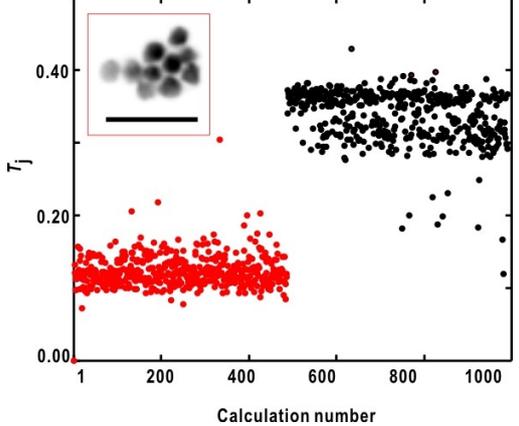


7KbG 0d24: K 7 K 56 6p XFEL 8G K S XFEL H0qbG K: xM b :U)z (V 0b'v S

3 5 Sk0qbG Me105)G6SuBM 2e27 0b'vS56

2) 0ivK8764E G#b)G016 S86 K vGK87 0e8 1000 Gb)G0qv

2, 3, 5, 6, 7, 9, 12



K87 4EM Su 2x'56 6K b(x60 0i8M2CM 87 66M X IC 40b K G 888 4 2IDG85V)z OS 4E bV IOS fG768 56

XFEL-XDI 900

4 b8GGG 2e'VG08DAG 0bKS#7b

V) M2DK 6KSx645(b674) K B6x 4S45K G#H)9N/AS 802SBH

S

2) 0 XFEL-XDI

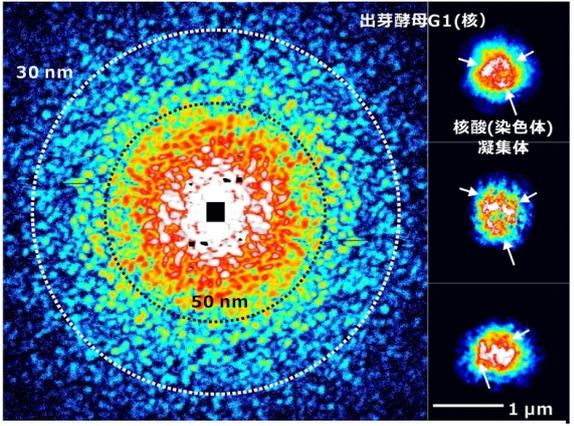
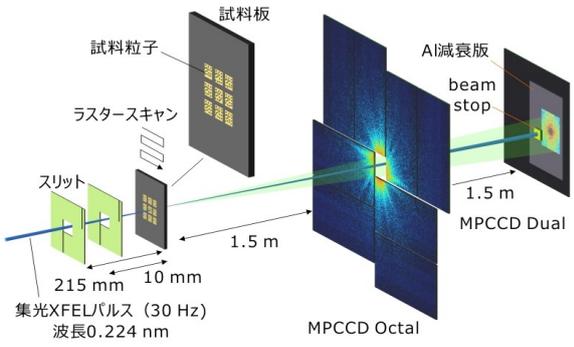
b484

b 0i

1e

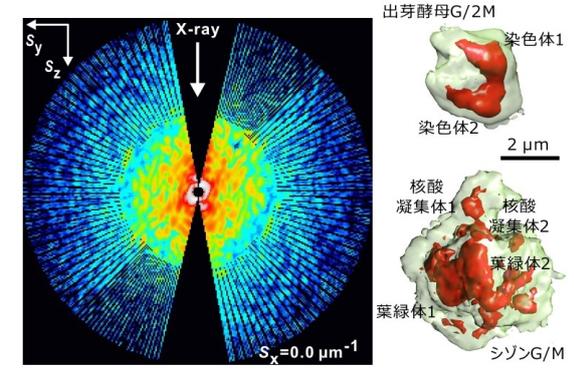
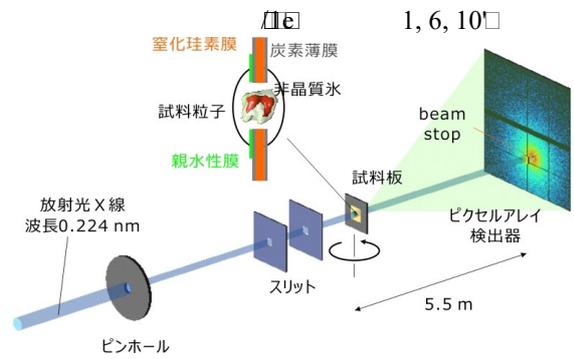
6, 8, 10, 11, 2

SACLA □ □
 multi-port CCD 8 □
 (Mv6S1K0) □
 0 □ 500 nm 4)BKS □ 5 M □ P1K □
 S0qc6K(7b) □ F 4 □
 (E)T'6 □
 6 □ F 46M) □
 M □ 1797 bG(0) □
 MG#4E9K □
 8IvK(C)GLS □ 166 b □
 7 □ □ □ (6x) □ 1000 nm □
 □ 850 nm b#A16p □ 4 □
 8M(xMG0bKSGb) □
 7E □ M □)00 □ 987 □
 gM □ #A □ 250 nm □ 6 □
 G □ □ /x67/8 □ #A □ 200 □
 nm b77 □ KK □ □ □ 2 □
 7 □ 250 nm 6G0bKIS □ G □
 c#00 □ b 86EBS □
 46 □ XDI bWgM) □
 S □ #E1p □ □
 #8E □ b9 □
 #bG# □
 SB28(BS4EA) □
 MG0f □ -)s/b7/ □ A □
 □ g#MGKS □ #)T#8E# □
 500 nm S4B64 □ 'GMGAS □



□ 5 XFEL-XDI 9b0M4 □
 6M#G# □
)G7 □

2 □ □ □ CXDI 9 □ (bU# □
 SPring-8 b BL29XU c9(G3) □
 4#BKS0q □
 U/(# □ (□
 0q □ 70 K □ □ CXDI □
 9 □ S □ □
 #A □ 5 μm □
 6 μm □ 1.0 8K □
 1.5 G3IOH □ 60 8K □ 180 □ b □
 7 □ 50 nm 2x □ (0 □ □ G# □
 06K □ □ G □ 0(M □ ±80r □)8 □ K □
 USIB0#p7 □ KS □
 SG# □ X)z □
 PM(b#7VK) □
 □ 100 nm b(0) □
 □ U7SBKS □
 b#U7E □
 □ x-)s/0b8TMGA □ □
 #8 □ . 86x □
 ,#0q6786V □
 7K □ 8GKS □
 M)zU5(0b6(K) □
 2E □ 20 nm (0(b7) □
 x016GKS □ □
 #USIB7b(- □
 2UK □ 50 nm (0b(b0iD4u6) □
 3)z7E □ ' □
 7I10 □ 12 □ □ □



□ 6 XDI □ □ 9bM □ □
 vG#(M#ISIB7) □
 □

12. Nakasako M. *et al.* (2019) *Coherent X-ray diffraction imaging of biological cells*. Springer Series Optical Sciences Vol.210. Springer. '32 G'.
13. Sekiguchi Y. *et al.* (2019) *Coherent X-ray diffraction imaging of Cyanidioschyzon merolae*. Chapter 10 (pp153-173) in 'Cyanidioschyzon merolae: A New Model Eukaryote for Cell and Organelle Biology', Springer. '32 G'.
14. Nakasako M. *et al.* (2018) *X-ray free electron laser*. Springer. '31 G'.
15. Nakasako M. *et al.* (2018) *X-ray free electron laser*. Springer. '31 G'.
16. Yamamoto T. *et al.* (2017) 3D structural analysis of yeast nucleus in different cell phases by coherent X-ray diffraction imaging using X-ray free electron laser. '55 G'.
17. Kobayashi A. *et al.* (2017) Three-dimensional structure of Cyanidioschyzon merolae by using coherent X-ray diffraction imaging tomography at cryogenic temperature. '55 G'.
18. Oide M. *et al.* (2017) Blue-light induced structural changes of phototropin revealed by Small-angle X-ray Scattering. Okazaki Conference 2017 'Grand Challenges in Small-angle Scattering'.
19. Nakasako M. *et al.* (2017) *X-ray free electron laser*. Springer. '30 G'.
20. Nakasako M. *et al.* (2017) *X-ray free electron laser*. Springer. '30 G'.
21. Oide M. *et al.* (2017) *Structure of Arabidopsis phototropin1*. Springer. '30 G'.
22. Nakasako M. *et al.* (2017) *X-ray free electron laser*. Springer. '30 G'.
23. Nakasako M. *et al.* (2017) *X-ray free electron laser*. Springer. '30 G'.
24. Oide M. *et al.* (2016) Structural and functional study of Arabidopsis phototropin1 and its mutants by using small-angle X-ray scattering. '54 G'.
25. Sekiguchi Y. *et al.* (2016) Automated data analyses for 3D structural reconstruction of yeast nuclei in coherent diffraction imaging using X-ray free-electron laser. '54 G'.
26. Yoshidome T. *et al.* (2016) Reconstruction of three-dimensional structures of a protein with software ENMA and EMC algorithm: A simulation for XFEL-CXDI experiment. '54 G'.
27. Kobayashi A. *et al.* (2016) Three-dimensional structure of a cyanobacterium visualized by cryogenic coherent X-ray diffraction imaging using X-ray free-electron laser. '54 G'.

1. Nakasako M. (2018) *X-ray diffraction imaging of biological cells* (total 228 pages). Springer Series Optical Sciences Vol.210. Springer.

2. Sekiguchi Y. *et al.* (2018) *Coherent X-ray diffraction imaging of Cyanidioschyzon merolae*. Chapter 10 (pp153-173) in 'Cyanidioschyzon merolae: A New Model Eukaryote for Cell and Organelle Biology', Springer.

○ <http://www.phys.keio.ac.jp/guidance/labs/nakasako/nakasako-lab.html>

8: 8: 2018 8, 9

M3U 8: 2018 8 2 4 8 Business i 2018 9

20 2018 1 26

- 4) 2)
- (1) 2(80
- (2) 2 80

※