

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：84502

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K03497

研究課題名（和文）統計学的解析によるXFELバイオナノイメージングの深化

研究課題名（英文）Improvement of XFEL bio-nano imaging with statistical analysis

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） 3,300,000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ナノ粒子が機能を発現している状態の過渡的な瞬間構造を捉えることが不可欠であり、超短パルスのXFELを利用したコヒーレント回折イメージング(CDI)は、そのポテンシャルをもつ。その実現のためには、試料以外からの背景散乱、検出ノイズ、検出器の不感領域等が含まれる実験データから確からしい試料の電子密度を再生する位相回復法の開発と、その信頼度の定量化が必要である。本研究では、そのための手法を計画通り開発することができたが、実験データの背景散乱および検出ノイズが想定以上に深刻であることが分かった。ノイズ耐性の高い手法への高度化が今後の課題である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

位相回復法は、コヒーレント回折パターン解析に必須のものであるが、試料以外からの背景散乱を系統的に扱う手法はこれまで存在しなかった。また、理想的な回折パターンではない実験データを扱う場合、再生された電子密度像の信頼性は本来部位特異的であるはずだが、これまでは部位に依存しない一つの指標のみで評価されてきた。本研究では、適用範囲に限界はあるものの、これらの問題に対応した新規手法を開拓することができた。さらなる実用化に向けて研究を進めたい。

研究成果の概要（英文）：To understand the biological phenomenon, it is essential to capture the transient instantaneous structure of the biological nanoparticles, when they are expressing their functions. Coherent diffractive imaging (CDI), using XFEL with ultrashort pulse, has the potential to achieve that. For that, it is necessary to develop a phase retrieval method that reproduces a plausible electron density of a sample from experimental data that includes background scattering from sources other than the sample, detection noise, and dead zones of the detector, and to quantify the reliability of the result of the phase retrieval. In this study, we have developed a method for the purpose as planned, but it was found that the background scattering and detection noise of the experimental data were more serious than expected. The future challenge is to improve the method to have high noise resistance.

研究分野：計算生物物理学

キーワード：コヒーレント回折イメージング X線レーザー 生物物理 位相回復 実験データ解析 ノイズ除去

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ナノ粒子が機能を発現している状態の過渡的な瞬間構造を捉えることが不可欠であり、超短パルスの XFEL を利用したコヒーレント回折イメージング(CDI)は、そのポテンシャルをもつ。回折波の複素振幅は、試料の電子密度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ため、CDI では、HIO 法(Fienup, Appl. Opt. 1982)等の計算科学的手法により位相を回復する。HIO 法は、理想的な回折パターンに対しては非常に有効であるが、一方で、試料以外からの背景散乱、検出ノイズ、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。そのため、通常は、初期乱数を変えた位相回復計算を複数回実行し、その平均画像を解析結果とする。再生像の”質”については、複数の位相回復計算の逆空間における違いを表す PRTF と呼ばれる一つの指標だけで論じられ、実空間での各部位毎の構造信頼度が評価されていない。XFEL バイオナノイメージングを深化させるためには、実験データから確からしい試料の電子密度を再生する位相回復法の開発と、その信頼度の定量化が求められる。

2. 研究の目的

本研究では、試料以外からの背景散乱、検出ノイズ、検出器の不感領域等が含まれる実験回折パターンに適した位相回復法の構築を目指し、統計学的観点の工夫を取り入れることで、次の2つのデータ解析手法開発を行うことを目的とする。

- (A) ベイズ推定に基づく背景散乱除去付位相回復法
- (B) イメージ画素毎に解析結果の信頼度を定量化する確率的電子密度解析法

3. 研究の方法

- (A) ベイズ推定に基づく背景散乱除去付位相回復法の開発

生体粒子からの微弱な回折光子数 N は、検出される際にポアソンノイズに侵される。試料からの回折光子数の期待値 I は、試料の電子密度 ρ の関数として解析的に記述できる。実際の実験では、試料以外からの背景散乱 I_{BG} が含まれるため、回折強度の期待値は、その和として $I(\rho) + I_{BG}$ で表される。よって、試料の電子密度 ρ および背景散乱 I_{BG} が与えられたとき、回折光子数 N が観測される確率 $P(N|\rho, I_{BG})$ は、ポアソン分布で記述できる。逆に、回折光子数 N が観測されたとき、試料の電子密度が ρ および背景散乱が I_{BG} である確率 $P(\rho, I_{BG} | N)$ は、ベイズの定理により、次式で表される。

$$P(\rho, I_{BG} | N) \propto P(N | \rho, I_{BG}) \pi(\rho) \quad (1)$$

ここで、 $\pi(\rho)$ は事前確率である。つまり、ある回折パターンが与えられたとき、(1)式を最大化させる ρ 、 I_{BG} を求めてやれば、試料以外からの背景散乱を除いた、確からしい試料の電子密度 ρ を決定することができる。本研究では、 ρ の初期値および $\pi(\rho)$ に、HIO 法等の位相回復計算結果を利用し、不感領域の画素を除いて定義した(1)式右辺の対数を、繰り返し計算により最大化する。XFEL の特性により、入射強度がショット毎に揺らぐため、 I_{BG} も回折パターン毎に異なる。 I_{BG} の由来は、光学系および試料ホルダであり、その形状はほぼ一定である。本研究では、試料がない状態で取得した回折パターンの平均値 S_{BG} を用いて、 $I_{BG} = c S_{BG}$ と近似し、 c を回折パターンから決定する。実験を模して計算した 70S リボソームの回折パターンを利用して本手法の開発を行う。

- (B) イメージ画素毎に解析結果の信頼度を定量化する確率的電子密度解析法

(A) で解析した電子密度は、背景散乱の強さ、不感領域の大きさ等の影響から、初期乱数の違いにより、再生される電子密度も若干揺らぐ。1 万回程度(A)の位相回復計算を行い、再生される電子密度の画素毎の確率分布を計算し、信頼度を定量化する

4. 研究成果

(A) の手法を開発し、試料以外の背景散乱等を考慮してシミュレートしたリボソームの回折パターンに適用したところ、背景散乱レベルが低く、適度なショットノイズの場合には、開発した手法により、背景散乱の影響を正しく除去した電子密度像を再生することができた(図 1)。

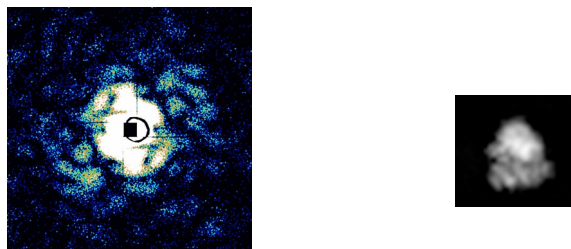


図 1 背景散乱、不感領域、検出ノイズを考慮してシミュレートした回折パターン(左)と位相回復結果(右)

しかし、X線自由電子レーザー施設 SACLA の実験条件に合わせてシミュレートしたリボソームの回折パターンでは、試料からの回折シグナルと背景散乱が同程度であり、かつ、ポアソンノイズが深刻であるため、正しい電子密度を再生することが困難であった。

次に、(A)の手法が適用できる程度のシミュレーション回折パターンを入力として、初期乱数を変えて(A)の手法を適用し位相回復した試料像データセット(1万枚の回折パターン)を作成した。データセットに対して、画素毎の平均値と分散を評価したところ、画素毎に分散の程度が異なることが分かり、分散が小さい領域の方が、再生された電子密度の信頼度が高いと言える。

[SACLA の利用実験状況と今後の課題]

上記の通り、本研究では計画通りに手法を開発したが、実用のためには、SACLA の利用実験のような S/N 比が非常に低い実験回折パターンへの対応させるように改良することが必要である。

本研究課題の実施期間中に西野グループ(北海道大学等)が実施した SACLA の利用実験では、実験の高度化が進み、図 2 に示す通りリボソームからの回折シグナルが取得出来ている。実験で取得した回折パターンセットから抽出した物理量として、横軸に粒子内の電子数に対応する回折光子数、縦軸に粒子の大きさに対応するギニエ近似の傾きをプロットすると、生体粒子から取得した回折パターンでは、試料なしの回折パターンとは異なる位置に分布が観られる。この分布は、実験条件を考慮してシミュレートした回折パターンのものと良く一致する。

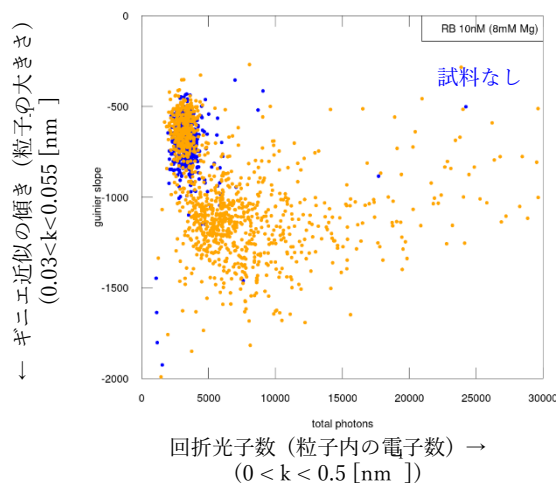


図 2 回折パターンから計算した回折光子数とギニエ近似の傾きの 2 次元プロット

図 2 の横軸方向の分布から分かる通り、試料からの回折シグナルの量は、試料なしの背景散乱と同程度である。また、図 2 の縦軸は、検出ノイズにより大きく分布することが分かった。このような回折パターンは、本研究で開発した手法の適用範囲外であった。SACLA の利用実験回折パターンに対して有効な位相回復法への高度化が今後の課題である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Suzuki Akihiro, Tanaka Hiromochi, Yamashige Hisao, Orikasa Yuki, Niida Yoshiya, Kimura Takashi, Tono Kensuke, Yabashi Makina, Ishikawa Tetsuya, Bessho Yoshitaka, Joti Yasumasa, Nishino Yoshinori	4. 巻 22
2. 論文標題 Femtosecond X-ray Laser Reveals Intact Sea-Island Structures of Metastable Solid-State Electrolytes for Batteries	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nano Letters	6. 最初と最後の頁 4603 ~ 4607
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.nanolett.1c04392	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakano Miki, Miyashita Osamu, Joti Yasumasa, Suzuki Akihiro, Mitomo Hideyuki, Niida Yoshiya, Yang Ying, Yumoto Hirokatsu, Koyama Takahisa, Tono Kensuke, Ohashi Haruhiko, Yabashi Makina, Ishikawa Tetsuya, Bessho Yoshitaka, Ijio Kuniharu, Nishino Yoshinori, Tama Florence	4. 巻 9
2. 論文標題 Three-dimensional structure determination of gold nanotriangles in solution using X-ray free-electron laser single-particle analysis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Optica	6. 最初と最後の頁 776 ~ 784
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1364/OPTICA.457352	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yumoto Hirokatsu, Koyama Takahisa, Suzuki Akihiro, Joti Yasumasa, Niida Yoshiya, Tono Kensuke, Bessho Yoshitaka, Yabashi Makina, Nishino Yoshinori, Ohashi Haruhiko	4. 巻 13
2. 論文標題 High-fluence and high-gain multilayer focusing optics to enhance spatial resolution in femtosecond X-ray laser imaging	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-022-33014-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Akihiro, Moriya Toshiyuki, Oshima Tairo, Yang Ying, Niida Yoshiya, Tono Kensuke, Yabashi Makina, Ishikawa Tetsuya, Joti Yasumasa, Nishino Yoshinori, Bessho Yoshitaka	4. 巻 69
2. 論文標題 Thermus thermophilus polyploid cells directly imaged by X-ray laser diffraction	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of General and Applied Microbiology	6. 最初と最後の頁 125 ~ 130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2323/jgam.2023.06.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 城地保昌
2. 発表標題 X線自由電子レーザーによる分子レベルイメージングの実現に向けて
3. 学会等名 第36回分子シミュレーション討論会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中野 美紀、宮下 治、城地 保昌、鈴木 明大、西野 吉則、Florence Tama
2. 発表標題 X線自由電子レーザー単粒子解析を使用した溶液中の金ナノ粒子の三次元構造決定
3. 学会等名 第35回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西野 吉則、鈴木 明大、新井田 雅学、別所 義隆、城地 保昌
2. 発表標題 X線自由電子レーザーによるソフトマテリアルの無損傷ナノイメージング
3. 学会等名 第70回高分子討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Joti Yasumasa、Hatsui Takaki
2. 発表標題 Current status of SACLA Data Center and outlook of SPring-8 Data Center
3. 学会等名 26th Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography (IUCr 2023) (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	西野 吉則 (Nishino Yoshinori)	北海道大学 電子科学研究所	
研究協力者	鈴木 明大 (Suzuki Akihiro)	北海道大学 電子科学研究所	
研究協力者	別所 義隆 (Bessho Yoshitaka)	理化学研究所 放射光科学研究センター	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------