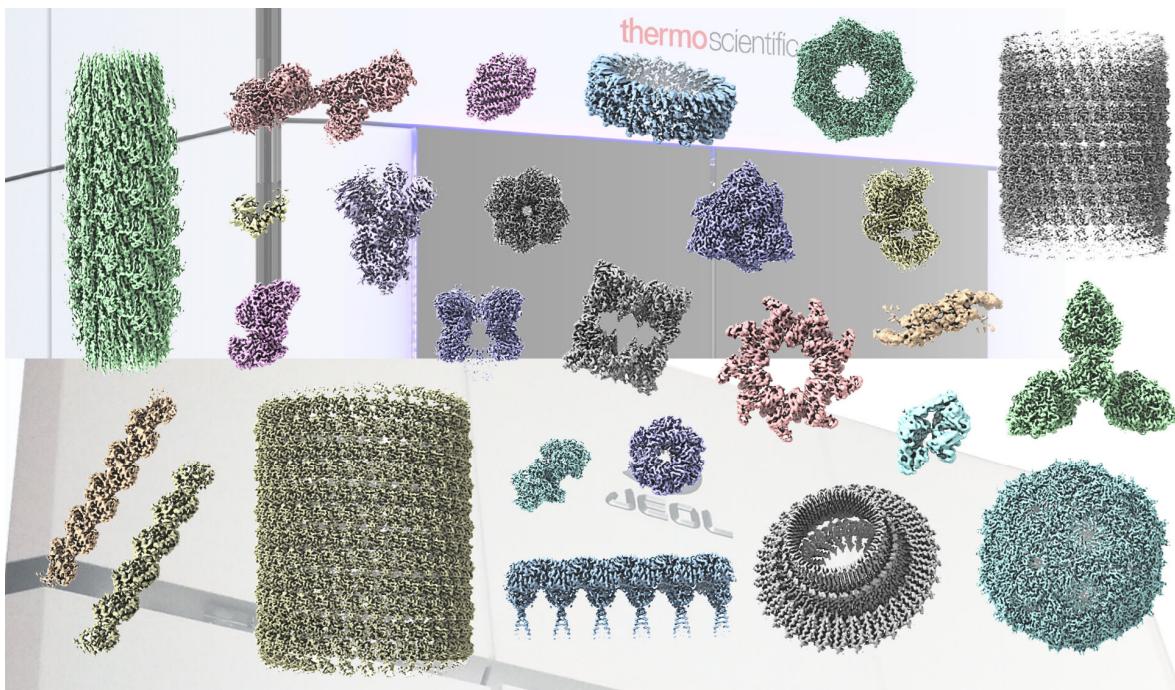


senri IF 千里ライフサイエンスセミナー×5

**生命科学の未来を拓く
クライオ電子顕微鏡のフロンティア**

講演要旨集



コーディネーター :

難波 啓一 大阪大学大学院生命機能研究科

日本電子 YOKOGUSHI 協働研究所 特任教授

大阪大学 名誉教授

加藤 貴之 大阪大学蛋白質研究所 電子線構造生物学研究室 教授

大阪大学蛋白質研究所 高分解能クライオ電子顕微鏡研究室 教授

日 時 : 2026年1月21日(水) 10:30~16:35

会 場 : 千里ライフサイエンスセンタービル5F

山村雄一記念ライフホール (WEB配信併用)

主 催 : 公益財団法人 千里ライフサイエンス振興財団

後 援 : バイオコミュニティ関西

表紙写真図 :

クライオ電子顕微鏡により高分解能で解析されたタンパク質複合体の構造ギャラリー。

背景に見えるのは世界中で使われている 2 つの最先端高性能クライオ電子顕微鏡。

【大阪大学 大学院生命機能研究科 難波啓一先生 提供】

プログラム

10:30～10:35

開会の挨拶 公益財団法人 千里ライフサイエンス振興財団 理事長

審良 静男

10:35～10:45

はじめに

大阪大学大学院生命機能研究科日本電子 YOKOGUSHI 協働研究所 特任教授

大阪大学 名誉教授 難波 啓一

10:45～11:15

演題1 生命の基盤を可視化して医学・創薬に貢献するクライオ電子顕微鏡4

大阪大学大学院生命機能研究科日本電子 YOKOGUSHI 協働研究所 特任教授

大阪大学 名誉教授 難波 啓一

11:15～11:55

演題2 クライオ電子線トモグラフィーによる上皮構造8

東京大学大学院医学系研究科 分子細胞生物学専攻 生体構造学分野 教授 吉川 雅英

11:55～13:05

昼 食

13:05～13:45

演題3 クライオ電子顕微鏡で多様な組織を解剖する12

山梨大学大学院総合研究部 医学域基礎医学系

解剖学講座構造生物学教室 教授 小田 賢幸

13:45～14:25

演題4 創薬・医学研究に資する膜タンパク質の構造研究16

京都大学大学院生命科学研究科

高次生命科学専攻 システム生物学講座 生体制御学分野 教授

京都大学大学院医学研究科

分子生体統御学講座 分子細胞情報学分野 教授 岩田 想

14:25～14:35

休憩

14:35～15:15

演題5 第一三共の創薬におけるクライオ電子顕微鏡の活用 20

第一三共株式会社 研究開発本部 研究統括部 モダリティ第一研究所

第七グループ プリンシパルサイエンティスト 石井 亮平

15:15～15:55

演題6 大塚製薬におけるクライオ電子顕微鏡が加速する創薬研究 22

大塚製薬株式会社 大阪創薬研究センター

デジタル創薬ラボ クライオ電子顕微鏡室 室長 宮崎 直幸

15:55～16:25

演題7 データから見るクライオ電子顕微鏡の現状 26

大阪大学蛋白質研究所 電子線構造生物学研究室 教授

大阪大学蛋白質研究所 高分解能クライオ電子顕微鏡研究室 教授 加藤 貴之

16:25～16:35

おわりに

大阪大学蛋白質研究所 電子線構造生物学研究室 教授

大阪大学蛋白質研究所 高分解能クライオ電子顕微鏡研究室 教授 加藤 貴之

※ 記載の時間は質疑応答を含みます。ご留意ください。

<座長> 演題1、2、3、4：加藤 貴之 演題5、6、7：難波 啓一

セミナー終了後、会場ロビーにて交流会（名刺交換会）を開催します。

はじめに

大阪大学大学院生命機能研究科

日本電子 YOKOGUSHI 協働研究所 特任教授（常勤）

大阪大学 名誉教授

難波 啓一（なんば けいいち）

細胞や生体高分子の立体構造は生命科学のみならず医学・創薬に必須な基盤情報です。複雑な生命機能のメカニズムを解明するには細胞や生体高分子の構造とその動態や分子間相互作用を様々な状態で可視化することが必須で、可視化すべき構造の数は生体高分子だけでも数億に上ります。

クライオ電子顕微鏡法は最近の技術進歩により X 線結晶解析法や NMR を補足する役割を超え、構造生命科学の基盤技術として極めて強力なツールとなりました。わずか数 μg のタンパク質水溶液試料からその立体構造を 2 日程度で決定することも可能になり、構造の安定なタンパク質では原子まで解像できる高分解能も達成可能です。最近では凍結細胞をイオンビームで薄いラメラ状にし、トモグラフィーにより立体像を得て、細胞内で働くタンパク質複合体の局在や相互作用まで可視化できるようになっています。

本セミナーではそういった最近の技術進歩についてご紹介するとともに、今後に期待される一層の技術進歩や創薬等への応用展開について議論したいと思います。

演題 1

生命の基盤を可視化して医学・創薬に貢献する クライオ電子顕微鏡

大阪大学大学院生命機能研究科

日本電子 YOKOGUSHI 協働研究所 特任教授（常勤）

大阪大学 名誉教授

難波 啓一 (なんば けいいち)

勤務先

大阪大学大学院生命機能研究科 日本電子 YOKOGUSHI 協働研究所

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 1-3

学歴・職歴

1974 年	大阪大学 基礎工学部 生物工学科 卒業
1980 年	大阪大学 大学院 基礎工学研究科 物理系専攻 博士課程修了
1980-1981 年	日本学術振興会 奨励研究員 (大阪大学 大学院 基礎工学研究科)
1981-1984 年	Brandeis 大学 博士研究員
1984-1986 年	Vanderbilt 大学 上級博士研究員
1986-1986 年	Brandeis 大学 上級博士研究員
1986-1991 年	新技術事業団 ERATO 宝谷超分子柔構造プロジェクト グループリーダー
1992-1999 年	松下電器産業(株) 国際研究所 リサーチディレクター
1997-2003 年	科学技術振興事業団 ERATO プロトニックナノマシンプロジェクト 総括責任者
1999-2002 年	松下電器産業(株) 先端技術研究所 リサーチディレクター
2002-2008 年	科学技術振興機構 ICORP 超分子ナノマシンプロジェクト 研究総括 (2003 年まで科学技術振興事業団)
2002-2017 年	大阪大学 大学院 生命機能研究科 教授
2002-2006 年	高輝度光科学研究センター 客員主席研究員
2004-2013 年	名古屋大学遺伝子実験施設 客員教授
2006-2013 年	理化学研究所播磨研究所 客員主管研究員
2010-2012 年	大阪大学 大学院 生命機能研究科 研究科長
2012-2014 年	大阪大学 評議員
2012-2013 年	東北大学多元物質科学研究所 客員教授
2012-2018 年	理化学研究所生命システム研究センター 超分子システム動態研究連携室 室長
2013-2017 年	大阪大学 特別教授
2017 年	大阪大学 名誉教授

2017 年	大阪大学 大学院 生命機能研究科 特任教授（常勤）
2017-2018 年	大阪大学 栄誉教授
2017-2018 年	理化学研究所生命システム研究センター 副センター長
2018-2023 年	理化学研究所放射光科学研究センター 副センター長
2018-2022 年	理化学研究所生命機能科学研究センター 超分子システム動態研究チーム チームリーダー
2018-2023 年	理化学研究所バトンゾーン研究推進プログラム 理研-JEOL 連携センター 連携センター長

学 位 工学博士

受 賞 歴

2001 年	第 19 回大阪科学賞
2002 年	ビジュアル・サイエンス・フェスタ 2002 優秀賞
2003 年	TEPIA ハイテク・ビデオ・コンクール最優秀作品賞・TEPIA グランプリ
2004 年	日本遺伝学会ベストペーパー賞
2009 年	The 2009 Biophysical Society Founders Award
2009 年	EMBO Associate Member
2010 年	American Academy of Microbiology Fellow
2012 年	恩賜賞、日本学士院賞
2022 年	日本顕微鏡学会 学会賞（瀬藤賞）

所属学会 日本生物物理学会、日本分子生物学会、日本蛋白質科学会、日本顕微鏡学会、
Biophysical Society

専門分野 生物物理学、分子生物学

主な著書（原著論文）

1. Epoxidized graphene grid for highly efficient high-resolution cryoEM structural analysis. Fujita J, Makino F, Asahara H, Moriguchi M, Kumano S, Anzai I, Matsuura Y, Kato T, Namba K & Inoue T, *Sci. Rep.* **13**, 2279 (2023).
2. Structure of the molecular bushing of the bacterial flagellar motor. Yamaguchi T, Makino F, Miyata T, Minamino T, Kato T & Namba K, *Nature Commun.* **12**, 4469 (12pp) (2021).
3. Direct visualization of secondary structures of F-actin by electron cryomicroscopy. Fujii T, Iwane AH, Yanagida T & Namba K, *Nature* **467**, 724-728 (2010).
4. Distinct roles of the ATPase and proton motive force in bacterial flagellar protein export. Minamino T & Namba K, *Nature* **451**, 485-488 (2008).

5. Structure of the bacterial flagellar hook and implication for the molecular universal joint mechanism. Samatey FA, Matsunami H, Imada K, Nagashima S, Shaikh TR, Thomas DR, Chen JZ, DeRosier DJ & Namba K, *Nature* **431**, 1062-1068 (2004).

主な総説・書籍等

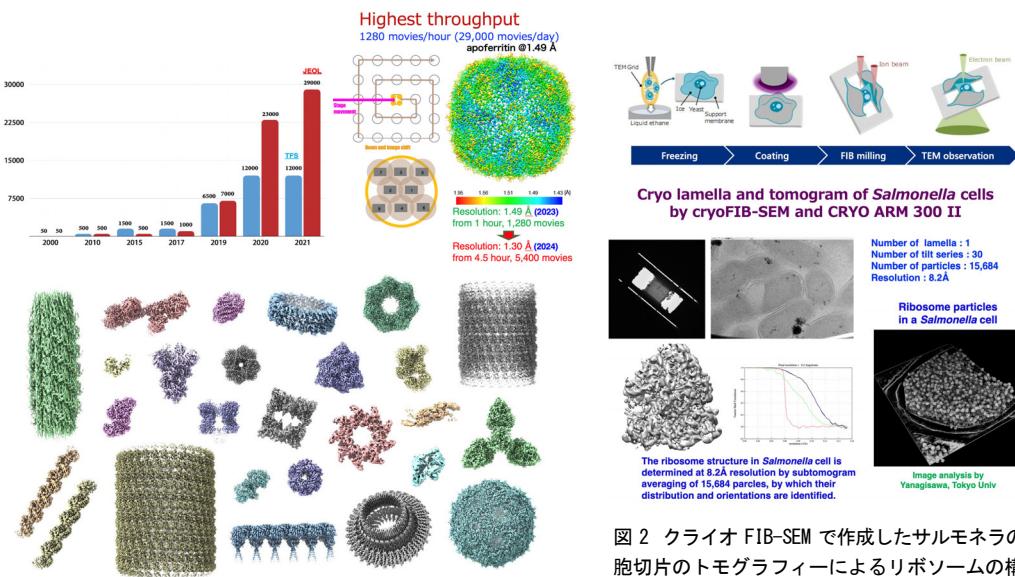
1. Minamino, T., Miyata, M. & Namba, K. (2023) *Bacterial and Archaeal Motility – Methods and Protocols*. Methods in Molecular Biology. Springer Nature (eds.) vol. 2646.
2. 難波啓一、加藤貴之、牧野文信 (2023) クライオ電子顕微鏡ハンドブック エヌ・ティー・エス (監修)
3. 難波啓一. クライオ電子顕微鏡が拓く生命科学の未来. 顕微鏡 Vol.57, No.3, 99, 2022.

公職・その他

日本学術会議連携会員（生物物理分科会委員 IUPAB 分科会委員）(2007 年～)、
科学技術振興機構さきがけ「生命現象と計測分析」領域アドバイザー (2005–2011) など

要　旨

細胞や生体高分子の立体構造は生命科学のみならず医学・創薬に必須な基盤情報です。複雑な生命機能のメカニズムを解明するには細胞や生体高分子の構造とその動態や分子間相互作用を様々な状態で可視化することが必須で、可視化すべき構造の数は生体高分子だけでも数億に上ります。クライオ電子顕微鏡法は最近の技術進歩により X 線結晶解析法や NMR を補足する役割を超えて、構造生命科学の基盤技術として極めて強力なツールとなりました。安定性と制御性の高い電子光学系、冷陰極電界放出型電子銃、エネルギーフィルター、高速・高感度の CMOS 型直接電子検出カメラ等を装備したクライオ電子顕微鏡や高速コンピューターと画像解析ソフトなどハード・ソフトの開発により、わずか数 μg のタンパク質水溶液試料からその立体構造を 2 日程度で決定することも可能になり、構造の安定なタンパク質では原子まで解像できる高分解能も達成可能です(1)。数年前までは分子モデル構築に必要な原子レベル分解能の構造解析に要する数千枚の電子顕微鏡像の撮影に数日かかりましたが、高速な電子ビーム制御技術を活用した撮影技術の近年の進歩により数時間、場合によっては 1 時間以内に撮影が完了するほどに高速化しました(2)。特に最近では、細胞内で働くタンパク質複合体の局在や相互作用まで可視化できる技術として、凍結細胞をイオンビームで薄いラメラ状にし、トモグラフィーにより立体像を得ることが可能になっています。本セミナーではそういういった最近の技術進歩についてご紹介するとともに、今後に期待される一層の技術進歩や創薬等への応用展開について議論したいと思います。



参考文献

図 1 撮影速度高速化により解析された数々の構造

- Kato, T. et al. CryoTEM with a cold field emission gun that moves structural biology into a new stage. Microsc. Microanal. 25 (supple 2), 998 (2019). DOI: 10.1017/S1431927619005725
- Namba, K. & Makino, F. Recent progress and future perspective of electron cryomicroscopy for structural life sciences. Microsc. 71(S1), i3-i14 (2022). DOI: <https://doi.org/10.1093/jmicro/dfab049>

演題2

クライオ電子線トモグラフィーによる上皮構造

東京大学大学院医学系研究科 分子細胞生物学専攻 生体構造学分野 教授

吉川 雅英 (きっかわ まさひで)

勤務先

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 東京大学・大学院・医学系研究科

学歴・職歴

1992年	東京大学・医学部医学科卒業
1992-1995年	東京大学・大学院・医学系研究科 博士課程
1993-1995年	日本学術振興会 特別研究員(DC)
1995-2001年	東京大学・大学院・医学系研究科・助手
2001-2007年	米国テキサス大学サウスウェスタン医科大学 細胞生物学 助教授
2007-2009年	京都大学・大学院・理学研究科 構造生物学特別講座 特任教授
2020-2024年	A member of Council of Scientists, HFSP
2009年～	東京大学・大学院・医学系研究科 生体構造学分野 教授
2020年～	東京大学・構造生命科学研究機構 機構長

学位 博士(医学) 1997年

受賞歴

2009年	風戸賞 「微小管モーターのクライオ電子顕微鏡による構造解析」に対して
2023年	日本顕微鏡学会 学会賞(瀬藤賞) 「クライオ電子顕微鏡を用いた細胞骨格・モーター分子の機能構造連関の解明」

所属学会 日本解剖学会、日本細胞生物学会、日本生物物理学会

専門分野 細胞生物学・構造生物学

主な著書(原著論文)

1. T. Makino, R. Kanada, T. Mori, K. I. Miyazono, Y. Komori, H. Yanagisawa, S. Takada, M. Tanokura, **M. Kikkawa**, and M. Tomi Shige. Tension-induced suppression of allosteric conformational changes coordinates kinesin-1 stepping. *J Cell Biol*, 224(7), 2025.
2. J. An, T. Imasaki, A. Narita, S. Niwa, R. Sasaki, T. Makino, R. Nitta, and **M. Kikkawa**. Dimerization of GAS2 mediates crosslinking of microtubules and F-actin. *EMBO J*, 2025.

3. H. Yamaguchi, M. Morikawa, and **M. Kikkawa**. Calaxin stabilizes the docking of outer arm dyneins onto ciliary doublet microtubule in vertebrates. *Elife*, 12, 2023.
4. F. Eisenstein, H. Yanagisawa, H. Kashihara, **M. Kikkawa**, S. Tsukita, and R. Danev. Parallel cryo electron tomography on in situ lamellae. *Nat Methods*, 20(1):131–138, 2023.
5. H. Takeda, A. Tsutsumi, T. Nishizawa, C. Lindau, J. V. Bustos, L. S. Wenz, L. Ellenrieder, K. Imai, S. P. Straub, W. Mossmann, J. Qiu, Y. Yamamori, K. Tomii, J. Suzuki, T. Murata, S. Ogasawara, O. Nureki, T. Becker, N. Pfanner, N. Wiedemann, **M. Kikkawa**, and T. Endo. Mitochondrial sorting and assembly machinery operates by beta-barrel switching. *Nature*, 2021.
6. Y. Araiso, A. Tsutsumi, J. Qiu, K. Imai, T. Shiota, J. Song, C. Lindau, L. S. Wenz, H. Sakaue, K. Yunoki, S. Kawano, J. Suzuki, M. Wischnewski, C. Schutze, H. Ariyama, T. Ando, T. Becker, T. Lithgow, N. Wiedemann, N. Pfanner, **M. Kikkawa**, and T. Endo. Structure of the mitochondrial import gate reveals distinct preprotein paths. *Nature*, 575(7782):395–401, 2019.
7. R. Danev, H. Yanagisawa, and **M. Kikkawa**. Cryo-Electron Microscopy Methodology: Current Aspects and Future Directions. *Trends Biochem Sci*, 44(10):837–848, 2019.
8. M. Owa, T. Uchihashi, H. A. Yanagisawa, T. Yamano, H. Iguchi, H. Fukuzawa, K. I. Wakabayashi, T. Ando, and **M. Kikkawa**. Inner lumen proteins stabilize doublet microtubules in cilia and flagella. *Nat Commun*, 10(1):1143, 2019.
9. H. Yamaguchi, T. Oda, **M. Kikkawa**, and H. Takeda. Systematic studies of all PIH proteins in zebrafish reveal their distinct roles in axonemal dynein assembly. *Elife*, 7, 2018.
10. T. Oda, H. Yanagisawa, R. Kamiya, and **M. Kikkawa**. A molecular ruler determines the repeat length in eukaryotic cilia and flagella. *Science*, 346(6211):857–860, 2014.

要　旨

トモグラフィーは細胞内の構造を観察する方法として発展してきました。これまでトモグラフィーはクライオ電子顕微鏡の単粒子解析に比べると、解像度が低いと考えられてきました。トモグラフィーの解像度が伸びないのは、主に試料を傾けてデータ収集すること、それに伴って試料が見かけ上厚いこと、また、データ収集のスループットが低いことが原因と考えられるようになってきました。しかし、最近の技術の進歩によって、トモグラフィーによる解析で高い解像度を得る事も可能になってきました。

そこで、この講演では纖毛の構造解析を例に(Yamaguchi et al., 2023, 2018)、データ収集のスループットを上げた方法 (PACEtomo) (Eisenstein et al., 2023)、それによって、どこまで高い解像度に達することができたのか？についてお話しします。さらに、定量的な質量分析やAlphaFold を用いた構造予測と組み合わせことで、これまで存在が知られていなかったタンパク質を、その形から「発見」できる可能性についても議論したいと考えています。

参考文献

Eisenstein, F., Yanagisawa, H., Kashihara, H., Kikkawa, M., Tsukita, S., Danev, R., 2023. Parallel cryo electron tomography on *in situ* lamellae. *Nat. Methods* 20, 131–138.

<https://doi.org/10.1038/s41592-022-01690-1>

Yamaguchi, H., Morikawa, M., Kikkawa, M., 2023. Calaxin stabilizes the docking of outer arm dyneins onto ciliary doublet microtubule in vertebrates. *eLife* 12, e84860.

<https://doi.org/10.7554/eLife.84860>

Yamaguchi, H., Oda, T., Kikkawa, M., Takeda, H., 2018. Systematic studies of all PIH proteins in zebrafish reveal their distinct roles in axonemal dynein assembly. *eLife* 7.

<https://doi.org/10.7554/eLife.36979>

..... **MEMO**

演題 3

クライオ電子顕微鏡で多様な組織を解剖する

山梨大学大学院総合研究部 医学域基礎医学系 解剖学講座構造生物学教室 教授
小田 賢幸 (おだ としゆき)

勤務先

山梨大学 大学院総合研究部 解剖学講座構造生物学教室
〒409-3898 山梨県中央市下河東 1110

学歴・職歴

2005 年	東京大学医学部医学科 中退
2005 年	東京大学大学院医学系研究科 Ph. D.-M. D. コース進学
2005 年	テキサス州立大学 Southwestern Medical Center 研究生
2007 年	京都大学大学院理学系研究科 NEDO 特別講座 委託研究生
2008 年	日本学術振興会 特別研究員
2009 年	東京大学大学院医学系研究科 博士課程 修了
2009 年	東京大学大学院医学系研究科解剖学講座生体構造学分野 助教
2016 年	山梨大学大学院総合研究部解剖学講座構造生物学教室 教授

学位 博士 (医学)

受賞歴

2014 年 第 7 回 (2014 年度) 風戸研究奨励賞 (公益財団法人風戸研究奨励会)

所属学会 日本顕微鏡学会、日本解剖学会

専門分野 構造生物学、細胞生物学、解剖学

主な著書 (原著論文)

1. Oda T, et al. Three-dimensional structures of the flagellar dynein-microtubule complex by cryo-electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 177. 243-252. 2007.
2. Oda T, et al. Identification of the Outer-Inner Dynein Linker as a Hub Controller for Axonemal Dynein Activities. *Curr. Biol.*, 23. 656-664. 2013.
3. Oda T, et al. Mechanosignaling between central apparatus and radial spokes controls axonemal dynein activity. *J. Cell Biol.*, 204, 807-819. 2014.

4. Oda T, *et al.* A molecular ruler determines the repeat length in eukaryotic cilia and flagella. *Science*, 346. 857-860. 2014.
5. Yamaguchi H, Oda T, *et al.* Systematic studies of all PIH proteins in zebrafish reveal their distinct roles in axonemal dynein assembly. *eLife*, 7. e36979. 2018.
6. Oda T, Yanagisawa H. Cryo-electron tomography of cardiac myofibrils reveals a 3D lattice spring within the Z-discs. *Comm. Biol.* 3. 585. 2020.
7. Takahashi H, Oda T, *et al.* Neural and behavioral control in *Caenorhabditis elegans* by a yellow-light-activatable caged compound. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 118 (6). e2009634118. 2021.
8. Oda T, *et al.* Cryo-electron tomography of Birbeck granules reveals the molecular mechanism of langerin lattice formation. *eLife* 11. e79990. 2022.
9. Yanagisawa H, Oda T, *et al.* Cryo-EM elucidates the uroplakin complex structure within liquid-crystalline lipids in the porcine urothelial membrane. *Comm. Biol.* 6. 1018. 2023.
10. Yanagisawa H, Oda T, *et al.* Cryo-EM of wild-type and mutant PMEL amyloid cores reveals structural mechanism of pigment dispersion syndrome. *Nat. Comm.* 16. 5411. 2025.

要　旨

近年、クライオ電子顕微鏡 (cryo-EM) は、タンパク質複合体の高分解能構造を *in vitro* で解析する技術として大きく発展し、発現・精製されたタンパク質を用いた構造解析が主流となってきた。しかし、細胞や組織内で形成される複合体は、発現系で再構成されたものとは異なる構造的制約下にあることが多く、より生理的なコンテクストでの構造解析 (native 構造解析) が求められるようになっている。本講演では、我々が取り組んできた、組織や細胞から直接得られた複合体を対象とした cryo-EM およびクライオ電子線トモグラフィー (cryo-ET) による構造解剖学的研究を紹介する。たとえば、心筋サルコメアの Z-disc においては、豚の心臓由来 myofibril を cryo-ET 解析し、筋収縮に伴って α -アクチニンがスイング・スライド運動を行う様子を F-actin 格子のねじれ変化とともに可視化した¹。また、皮膚の特殊な免疫細胞であるランゲルハンス細胞に特異的に存在する Birbeck 顆粒の構造解析では、膜型レクチンである langerin が形成するハニカム構造を観察し、HIV の取り込みメカニズムとの関連を明らかにした²。さらに尿路上皮の uroplakin plaque については、脂質ラフトと準結晶タンパク質複合体による高次バリア構造を明らかにし、大腸菌結合部位の局在と尿路感染起点の可視化に成功した³。

このような分子構造の *in situ* 観察は、従来の構造生物学が扱ってきた個々のタンパク質構造の理解を超え、疾患のようなマクロな生命現象の解明にも応用できる段階に入っている。その代表例として我々が取り組んだのが、眼科疾患である色素分散症候群 (Pigment Dispersion Syndrome, PDS) の分子機構の解析である。PDS は、虹彩上皮から剥離したメラニン色素顆粒が房水中を漂い、線維柱帯に沈着することで眼圧上昇を引き起こし、やがて色素性緑内障へと進行する疾患である。その発症メカニズムの鍵となるのが、色素顆粒の構造的足場となる PMEL アミロイド線維の異常である。我々は、ヒトメラノーマ細胞株から PMEL アミロイドを単離精製し構造解析を行った結果、PDS の原因変異 Gly175Ser により Ser175 と Tyr159 の間に新たな水素結合が形成され、線維構造が変化するとともにアミロイド形成能が亢進する分子機構を明らかにした。この成果は、単一アミノ酸変異がアミロイド構造を変容させ、細胞外での色素顆粒の分布を制御し、最終的には眼圧調節にまで影響を及ぼすという、分子構造から疾患病態への因果連鎖を明確に示すものである。

さらに現在、我々は iPS 細胞由来心筋細胞を用いた構造解析に取り組んでおり、cryo-FIB-SEM および cryo-ET により、細胞内での Z-body から Z-disc への成熟過程を三次元的に可視化する試みを進めている。このように、本講演では、分子構造から細胞機能、疾患理解に至る「構造解剖学」の最前線を紹介したい。

参考文献

1. Oda T, Yanagisawa H. Cryo-electron tomography of cardiac myofibrils reveals a 3D lattice spring within the Z-discs. *Comm. Biol.* 3. 585. 2020.

2. Oda T, *et al.* Cryo-electron tomography of Birbeck granules reveals the molecular mechanism of langerin lattice formation. *eLife* 11. e79990. 2022.
3. Yanagisawa H, Oda T, *et al.* Cryo-EM elucidates the uroplakin complex structure within liquid-crystalline lipids in the porcine urothelial membrane. *Comm. Biol.* 6. 1018. 2023.
4. Yanagisawa H, Oda T, *et al.* Cryo-EM of wild-type and mutant PMEL amyloid cores reveals structural mechanism of pigment dispersion syndrome. *Nat. Comm.* 16. 5411. 2025.

演題4

創薬・医学研究に資する膜タンパク質の構造研究

京都大学大学院生命科学研究科

高次生命科学専攻 システム生物学講座 生体制御学分野 教授

京都大学大学院医学研究科 分子生体統御学講座 分子細胞情報学分野 教授

岩田 想 (いわた そう)

勤務先

京都大学大学院医学研究科 分子細胞情報学

〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町

学歴・職歴

1986年3月	東京大学農学部卒業
1986年4月	東京大学大学院農学系研究科入学
1991年3月	同上 修了
1991年4月	文部省高エネルギー物理学研究所 日本学術振興会特別研究員-PD
1992年9月	ドイツ、マックスプランク生物物理学研究所 ヒューマン・フロンティア・サイエンス・プログラム 博士研究員
1996年6月	スウェーデン、ウプサラ大学生化学科 講師
1999年7月	スウェーデン、ウプサラ大学生化学科 教授
2000年3月	インペリアルカレッジロンドン生命科学科 教授（現在）
2004年8月	ダイアモンド放射光実験施設 ダイアモンドフェロー 兼任
2005年1月	インペリアルカレッジロンドン 構造生物学センターディレクター
2005年9月	独立行政法人 科学技術振興機構 ERATO岩田ヒト膜受容体構造プロジェクト 研究統括
2005年9月	独立行政法人 理化学研究所ゲノム科学総合研究センター 客員主管研究員
2007年3月	京都大学大学院医学研究科分子細胞情報学 教授
2012年6月	独立行政法人 理化学研究所放射光科学総合研究センター 利用技術開拓研究部門 SACL A利用技術開拓グループ グループディレクター 兼任

学位 農学博士

受賞歴

1998年	Svedberg Award (Swedish Society for Biochemistry and Molecular Biology)
1999年	Lindbom Prize (Royal Swedish Academy of Sciences)
2007年	日本学術振興会賞（日本学術振興会）
2007年	日本学士院学術奨励賞（日本学士院）
2010年	The Gregori Aminoff prize in crystallography 2010 (Royal Swedish Academy of Sciences)
2012年	文部科学大臣表彰科学技術賞（文部科学省）
2021年	小林賞（小林財団）
2023年	島津賞（島津科学技術振興財団）
2024年	武田医学賞（武田科学振興財団）

所属学会 日本生化学会、日本結晶学会、日本蛋白質科学会、日本生物物理学会

専門分野 X線結晶構造解析、膜タンパク質構造生物学

主な総説・書籍等

1. Methods and Results in Crystallization of Membrane Proteins (Iul Biotechnology)
2. 膜タンパク質構造研究（化学同人）

要 旨

これまで構造ベースの創薬研究にはX線結晶構造解析が広く用いられてきた。しかしながら創薬の重要なターゲットである膜タンパク質は結晶化が難しく、その構造の創薬研究に対する応用は時間のかかる、時には不可能な問題であった。近年技術的なブレークスルーがあったクライオ電子顕微鏡による単粒子解析はこの問題の決定的な解決策となった。

しかしながら、電子顕微鏡の単粒子解析では小さいタンパク質は分子の形がわかりにくく解析しにくいことが知られている。さらに界面活性剤等のミセルで覆われている膜タンパク質ではミセルとタンパク質のコントラストが低いためより問題が顕著である。この問題により創薬ターゲットとして重要な不活性型（Gタンパク質と複合体を形成していない）のGPCRや各種トランスポーターなどは電子顕微鏡での解析がしばしば困難であった。

この問題を解決する一つの方法が、ターゲット膜タンパク質と抗体フラグメントの複合体を取得することである。抗体部分ははつきりした突起を形成し、粒子の分子量を大きくするだけでなく形状に特徴を与えることにより単粒子解析を容易にすることができます。この技術はもともと膜タンパク質の結晶化を促進するために開発した技術であり、ターゲットのタンパク質と安定な複合体を形成できる構造認識抗体を得ることが成功に重要な鍵となる。我々の研究室では結晶化のためにこの技術を開発しておりそれを電子顕微鏡に応用することにより各種創薬ターゲット膜タンパク質の構造解析に成功している。

シンポジウムではこの技術や他の手法を組み合わせて解析に成功した神経伝達物質関連の受容体、輸送体及びウイルスのエントリーリセプターなど感染症関連の膜タンパク質の構造解析の例を示し、今後の創薬研究に対する応用について議論したい。

..... **MEMO**

演題5

第一三共の創薬におけるクライオ電子顕微鏡の活用

第一三共株式会社 研究開発本部 研究統括部 モダリティ第一研究所
第七グループ プリンシパルサイエンティスト
石井 亮平 (いしい りょうへい)

勤務先

第一三共株式会社 品川研究開発センター
〒140-8710 東京都品川区広町1-2-58

学歴・職歴

2000年 東京大学理学部生物化学科 卒業
2005年 東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻博士課程 修了
2005年 理化学研究所 研究員
2007年 コーネル大学医学部 研究員
2011年 東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻 特任助教
2015年 第一三共 RD ノバーレ株式会社 入社
2024年 第一三共株式会社へ転籍（第一三共 RD ノバーレ株式会社閉鎖に伴う）

学位 博士（リガク）

専門分野 構造生物学

主な著書（原著論文）

- Asai T, Adachi N, Moriya T, Oki H, Maru T, Kawasaki M, Suzuki K, Chen S, **Ishii R**, Yonemori K, Igaki S, Yasuda S, Ogasawara S, Senda T, Murata T. Cryo-EM Structure of K+-Bound hERG Channel Complexed with the Blocker Astemizole. *Structure*. 2021 Mar 4;29(3):203-212.e4
- Nakazawa S, Oikawa D, **Ishii R**, Ayaki T, Takahashi H, Takeda H, Ishitani R, Kamei K, Takeyoshi I, Kawakami H, Iwai K, Hatada I, Sawasaki T, Ito H, Nureki O, Tokunaga F. Linear ubiquitination is involved in the pathogenesis of optineurin-associated amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Commun*. 2016 Aug 24;7:12547

主な総説・書籍等

- 石井亮平: 難波啓一, 加藤貴之, 牧野文信（監修）高度化するクライオ電子顕微鏡ハンドブック, エヌ・ティー・エス, 東京, 第8章1節 (2022)

要 旨

近年、クライオ電子顕微鏡 (CryoEM) は技術の急速な進歩により、製薬業界での導入が進み、創薬研究に新たな可能性をもたらしている。その代表的な応用例として、Structure-Based Drug Design (SBDD)への活用が挙げられる。SBDDは、標的タンパク質の立体構造情報をを利用して、ヒット化合物探索からリード化合物の設計・最適化を合理的に行う創薬手法である。従来、その構造情報は主にX線結晶構造解析で得られていたが、膜タンパク質のように結晶化が困難な標的には適用が困難であった。近年のCryoEM単粒子解析の技術革新により、結晶化を必要とせず、かつ化合物の同定に十分な高分解能構造を取得できるようになった。そのため、膜タンパク質など、従来 SBDD が困難だった標的にも適用可能となり、創薬成功率の向上に貢献している。

さらに、Micro Electron Diffraction (MicroED) と呼ばれる電子線を用いた微小結晶の三次元構造解析技術も、低分子構造解析の新技術として注目されている。創薬研究の様々な場面では低分子化合物の構造決定が必要となるが、MicroED を用いることで、特別な結晶化操作を必要とすることなく、短期間で詳細な分子構造を決定することが可能となり、構造情報の活用が進んでいる。加えて、CryoEMは単なる構造解析だけでなく、リポソームや脂質ナノ粒子などのナノ粒子の形態や内部構造の観察にも活用されている。これにより、製剤設計や品質管理の分野でも有用なツールとなりつつある。

第一三共株式会社及び第一三共 RD ノバーレ株式会社では、2017年からの大阪大学との共同研究や(1)、2019年からのAMED/BINDSによる製薬企業、大学、研究機関との共同プロジェクトに積極的に参画し(2)、単粒子解析を創薬の主要ツールとして活用してきた。さらに2022年にはCryoEM装置を自社に導入し、MicroED やナノ粒子観察の分野にも活用の幅を広げている。本講演では、第一三共の創薬におけるCryoEMの活用事例について紹介したい。

参考文献

1. 石井亮平: 高度化するクライオ電子顕微鏡ハンドブック, エヌ・ティー・エス, 東京, 第8章1節 (2022)
2. Asai T, et al., Cryo-EM Structure of K⁺-Bound hERG Channel Complexed with the Blocker Astemizole. *Structure*, 29, 203-212.e4 (2021)

演題 6

大塚製薬におけるクライオ電子顕微鏡が加速する 創薬研究

大塚製薬株式会社 大阪創薬研究センター デジタル創薬ラボ
クライオ電子顕微鏡室 室長
宮崎 直幸 (みやざき なおゆき)

勤務先

大塚製薬株式会社 大阪創薬研究センター
〒562-0029 大阪府箕面市彩都粟生北5丁目1番35号

学歴・職歴

2000 年 大阪大学理学部化学科 卒業
2002 年 大阪大学大学院理学研究科高分子科学専攻 博士前期課程修了
2005 年 大阪大学大学院理学研究科高分子科学専攻 博士後期課程修了
2006 年 Karolinska Institute (Sweden) 博士研究員
2007-2011 年 大阪大学蛋白質研究所 特任研究員
2012-2015 年 生理学研究所 研究員
2016-2018 年 大阪大学蛋白質研究所 助教
2019-2020 年 筑波大学生存ダイナミクス研究センター 助教
2021-2022 年 大塚製薬株式会社 創薬化学研究所 主任研究員
2022 年 Astex Pharmaceuticals (UK) (出向)
2022-2024 年 大塚製薬株式会社 大阪創薬研究センター クライオ電子顕微鏡研究室 室長
2025 年-現在 大塚製薬株式会社 大阪創薬研究センター デジタル創薬ラボ
クライオ電子顕微鏡室 室長

学位 博士 (理学)

受賞歴

2017 年 日本顕微鏡学会 奨励賞
2018 年 大阪大学賞 若手教員部門

所属学会 日本顕微鏡学会 (代議員)、日本顕微鏡学会微生物顕微鏡分科会 (責任者)

専門分野 構造生物学、タンパク質科学

主な著書（原著論文）

1. Miyazaki N, Song C, Oka T, Miki M, Murakami K, Iwasaki K, Katayama K, Murata K. Atomic Structure of the Human Sapovirus Capsid Reveals a Unique Capsid Protein Conformation in Caliciviruses. *J Virol* 96(9): e0029822, 2022.
2. Kamiya R, Uchiyama J, Matsuzaki S, Murata K, Iwasaki K, Miyazaki N. Acid-stable capsid structure of Helicobacter pylori bacteriophage KHP30 by single-particle cryoelectron microscopy. *Structure* 30(2): 300-312.e3, 2022.
3. Matsushita A, Stewart F, Ilić M, Chen PJ, Wakita D, Miyazaki N, Murata K, Kinoshita M, Belušić G, Arikawa K. Connectome of the lamina reveals the circuit for early color processing in the visual pathway of a butterfly. *Curr Biol* 32(10): 2291-2299.e3, 2022.
4. Arimori T, Miyazaki N, Mihara E, Takizawa M, Taniguchi Y, Cabañas C, Sekiguchi K, Takagi J. Structural mechanism of laminin recognition by integrin. *Nat Commun* 12(1): 4012, 2021.
5. Nagao R, Kato K, Suzuki T, Ifuku K, Uchiyama I, Kashino Y, Dohmae N, Akimoto S, Shen JR, Miyazaki N, Akita F. Structural basis for energy harvesting and dissipation in a diatom PSII-FCPII supercomplex. *Nat Plants* 5(8): 890-901, 2019.
6. Suga M, Ozawa SI, Yoshida-Motomura K, Akita F, Miyazaki N, Takahashi Y. Structure of the green algal photosystem I supercomplex with a decameric light-harvesting complex I. *Nat Plants* 5(6): 626-636, 2019.
7. Malay AD, Miyazaki N, Biela A, Chakraborti S, Majsterkiewicz K, Stupka I, Kaplan CS, Kowalczyk A, Piette BMAG, Hochberg GKA, Wu D, Wrobel TP, Fineberg A, Kushwah MS, Kelemen M, Vavpetič P, Pelicon P, Kukura P, Benesch JLP, Iwasaki K, Heddle JG. *Nature* 569(7756): 438-442, 2019.
8. Tsutsumi K, Yonehara R, Ishizaka-Ikeda E, Miyazaki N, Maeda S, Iwasaki K, Nakagawa A, Yamashita E. Structures of the wild-type MexAB-OprM tripartite pump reveal its complex formation and drug efflux mechanism. *Nat Commun* 10(1): 1520, 2019.

要　旨

クライオ電子顕微鏡単粒子解析は、2013年に「分解能革命」と呼ばれる技術革新を経て、構造生物学、ひいては創薬研究にパラダイムシフトをもたらしました。その後の発展も目覚ましく、2020年には原子分解能に到達するまでに至り、タンパク質の詳細な原子モデル構築を可能にしています。この技術革新は、従来のX線結晶構造解析では解析が困難であった膜タンパク質や複雑なタンパク質複合体の構造解析を劇的に推進し、創薬標的分子の構造情報利用を飛躍的に加速させています。実際、製薬企業におけるクライオ電子顕微鏡の重要性は広く認識されており、2016年以降導入が進み、現在では世界の製薬・バイオテック企業で100台以上のクライオ電子顕微鏡が稼働し、医薬品開発の新たな基盤技術としての地位を確立しています。

大塚製薬株式会社では、この先端技術の持つ可能性を早期から見出し、積極的に導入・展開してきました。2015年頃には、フラグメント創薬のリーディングカンパニーである英国子会社 Astex Pharmaceuticals（以降、Astex社）において、クライオ電子顕微鏡を用いた創薬を開始しています。Astex社では、2016年には Cambridge Pharmaceutical Cryo-EM Consortium の中心企業の1つとして参画後、2017年には自社でクライオ電子顕微鏡を導入し、施設の拡張も進めてきました。クライオ電子顕微鏡の導入により、創薬標的範囲が拡大され、ハイスループットかつ高分解能で解析できる研究基盤を整備し、Astex社の強みであるフラグメント創薬の研究基盤がさらに強化されました。

一方、日本国内では、大阪創薬研究センターの設立に伴い、2022年に国内製薬企業で初めてとなる加速電圧300kVの高性能クライオ電子顕微鏡を導入しました。この導入に加え、タンパク質生産基盤、クライオ電子顕微鏡測定基盤、そして画像解析のIT基盤を体系的に整備することで、高難度な膜タンパク質や不安定なタンパク質複合体の構造を詳細に解析できる高度な研究体制を構築しています。大阪創薬研究センターでは、低分子医薬品のみならずバイオ医薬品の研究もミッションとなっており、多様なモダリティや幅広い疾患領域において、クライオ電子顕微鏡による精密な構造情報を提供しています。特に抗体医薬品の研究においては、大阪創薬研究センターの創薬基盤と、米国子会社 Visterra社が持つ最先端の抗体探索・最適化技術との協業体制を深化させ、革新的な抗体医薬品の創出に取り組んでいます。さらに、SLCトランスポーターなどを標的とした創薬を進めている米国子会社 Jnana Therapeutics（以降、Jnana社）との連携も進めつつあります。Jnana社の独自の創薬プラットフォームとクライオ電子顕微鏡による構造情報が結びつくことにより、新たな作用機序を持つ医薬品の創出を加速することが期待されます。

このように、大塚製薬株式会社では、徳島創薬研究センター、大阪創薬研究センター、Astex社、Visterra社、そしてJnana社と、地理的・専門的に分散した拠点がそれぞれ最先端の創薬技術を有することで、強固な「グローバル研究ネットワーク体制」を確立しています。このネットワークにおいて、各拠点の専門知識・技術とクライオ電子顕微鏡の技術が融合し、多様なモダリティや疾患領域における創薬標的の探索からリード化合物の最適化、作用機序の解明に至るまで、創薬プロセスの効率化と成功率の向上に貢献しています。本講演では、大塚製薬株式会社において、クライオ電子顕微鏡がどのように創薬課題を解決し、革新的な医薬品の創出を加速させているのか、その取り組みと成果、そして将来展望について紹介したい。

..... **MEMO**

演題 7

データから見るクライオ電子顕微鏡の現状

大阪大学蛋白質研究所 電子線構造生物学研究室 教授
大阪大学蛋白質研究所 高分解能クライオ電子顕微鏡研究室 教授
加藤 貴之 (かとう たかゆき)

勤務先

大阪大学 蛋白質研究所
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 3-2

学歴・職歴

1996 年	佐賀大学理工学部工業化学科卒業
1998 年	佐賀大学大学院理学系研究科・博士前期課程修了
1998 年	興和新薬株式会社 MR (～2000 年)
2004 年	大阪大学大学院薬学研究科・博士後期課程 (単位取得退学)
2004 年	科学技術振興機構, ICORP 超分子ナノマシンプロジェクト・技術員
2006 年	大阪大学大学院生命機能研究科・助手
2008 年	大阪大学大学院生命機能研究科・特任助教
2012 年	大阪大学大学院生命機能研究科・特任研究員
2012 年	大阪大学大学院生命機能研究科・助教
2017 年	大阪大学大学院生命機能研究科・特任准教授
2019 年	大阪大学蛋白質研究所・教授

学 位 博士 (理学)

所属学会 日本生物物理学会、日本蛋白質科学会、日本顕微鏡学会

専門分野 構造生物学

主な著書 (原著論文)

1. Asahi K, et al., Cryo-EM structure of the bacterial intramembrane metalloprotease RseP in the substrate-bound state., *Sci Adv.* 2025, 11(9): eadu0925.
2. Fukuda Y, et al., Progress in spatial resolution of structural analysis by cryo-EM. *Microscopy (Oxf)*, 2023, 72(2): 135-143.

3. Kato T, *et al.*, Structure of the native supercoiled flagellar hook as a universal joint., *Nat Commun.* 2019, 10(1): 5295.
4. Ruan J, Kato T, *et al.* Architecture of a flagellar apparatus in the fast-swimming magnetotactic bacterium MO-1. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 2012, 109(50): 20643-8.
5. Kato T, *et al.*, High-resolution structural analysis of a DNA nanostructure by cryoEM., *Nano Lett.* 2009, 9(7): 2747-50.

公職・その他

革新的先端研究開発支援事業・さきがけ・「細胞の動的高次構造体」

領域アドバイザー（2020年～現在）

要　旨

2013 年のダイレクトディテクターの登場は、クライオ電子顕微鏡 (cryo-EM) における分解能の概念を根底から覆し、構造生物学における技術革新の大きな転換点となった。それ以前はフィルム撮影が主流であり、得られるマップの分解能は 15~20 Å 程度に留まり、巨大複合体の全体像を低分解能で捉えるのが限界であった。そのため、cryo-EM によって得られた中・低分解能マップに X 線結晶構造解析や NMR で得られた既知の原子モデルをフィットさせる「ハイブリッド手法」が一般的であり、cryo-EM 単独で原子モデルを構築することは不可能であった。ダイレクトディテクターの導入後、分解能は急速に向上し、ダイレクトディテクターが普及した 2015 年には平均 6 Å、現在では 3.2 Å に達する。これにより、cryo-EM 単独で原子モデルを構築できる高分解能解析が標準化した。この分解能の劇的な改善は “Resolution Revolution” と称され、この大きな時代の変革を象徴する言葉として有名である。今や cryo-EM は X 線結晶構造解析と並ぶ主要手法として認識され、特に単粒子解析は広範な研究領域において不可欠な技術となっている。この急速な普及は装置整備にも反映されており、300 kV の high-end cryo-EM は世界で 300 台以上が導入されおり、日本国内でも 100-300 kV の cryo 専用機が 30 台を超えて、北海道から沖縄までの研究機関の約 15 基点に広く配置されている。かつては限られた施設のみが利用可能であったが、現在では全国的にアクセス可能となり、cryo-EM による構造解析が身近なものになった。

Cryo-EM の最大の利点は、結晶化を必要とせず溶液状態で試料の構造を解析できる点にある。例えば、protein data bank (PDB) に登録された構造の pH 条件を比較すると、X 線結晶構造解析では pH 2.5~11 と広い条件で構造解析がなされているのに対し、cryo-EM では 7~8 の中性付近が 9 割以上を占めている。これは、X 線結晶構造解析では様々な条件で結晶化が試みられた結果であるが、あくまでも “結晶化” における最適条件であり、その試料の機能状態の最適条件とは限らない。一方 cryo-EM では結晶化が必要ではないため、より生理条件に近い、すなわち機能状態に近い pH での構造解析が可能となっている。この特性は特に膜タンパク質や巨大複合体など、結晶化が困難な分子に対して大きな優位性を発揮している。このように優れた特性を持ち、その利用者が爆発的に増えてきた cryo-EM だが、今もって構造解析の主流は X 線結晶構造解析であることは変わっていない。しかし特定の試料において cryo-EM によって切り開かれた新しい研究領域が存在する。

PDB の protein family annotation にはそのタンパク質がどのカテゴリに分類されるかを表すパラメータがある。これまで最も多くの構造解析がなされたカテゴリは “hydrolase” で、登録件数は 4 万件ほどある。その構造解析のほとんどは X 線結晶構造解析によって達成されており、現在でも cryo-EM による構造解析はごく一部のみにとどまっている。一方 “ribosome” に関しては Resolution Revolution 以降すぐに cryo-EM による解析に移行しており、以後 cryo-EM の主戦場となっている。同様に “membrane protein” は 2019 年以降 cryo-EM が主流となっており、多くの膜タンパク質の構造解析に貢献してきた。特に主要な治療薬のターゲットである GPCR は、そのほとんどが cryo-EM で構造解析がなされており、創薬の発展に貢献している。

“immune system” は 2024 年に初めて cryo-EM の登録件数が X 線構造解析を上回っており、今後 cryo-EM によって切り開かれる分野と期待できる。

本セミナーでは、PDB に基づく定量的解析及び、cryo-EM によって解析された具体的な構造を取り上げ、クライオ電子顕微鏡がもたらした構造生物学の変革の本質と、今後の発展性について議論する。

参考文献 : protein data bank (PDB): <https://pdbj.org/?lang=ja>

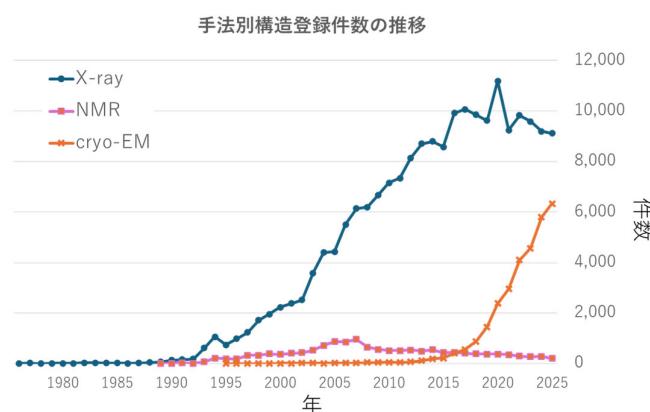


図 1. X 線結晶構造解析と cryo-EM による構造の登録件数の推移

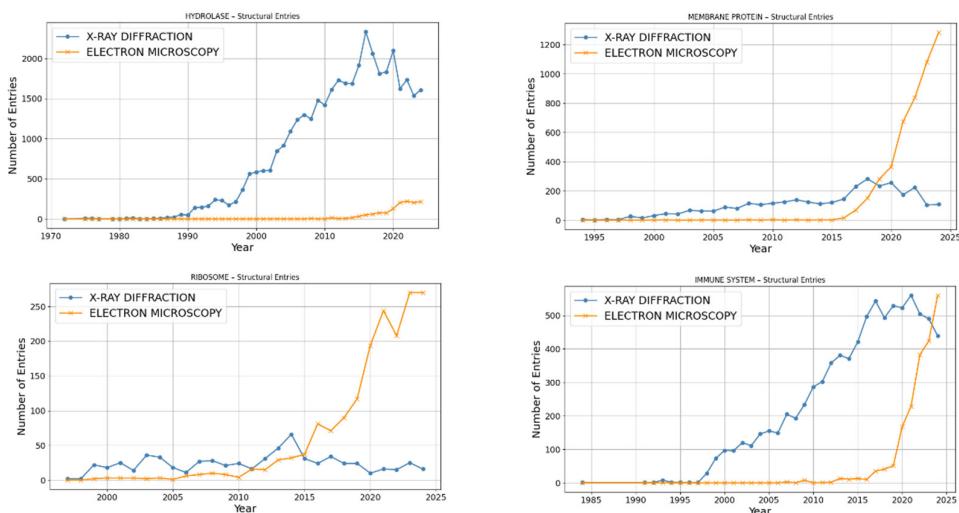


図 2. 試料カテゴリ別の構造登録数の推移

おわりに

大阪大学蛋白質研究所 電子線構造生物学研究室 教授

大阪大学蛋白質研究所 高分解能クライオ電子顕微鏡研究室 教授

加藤 貴之 (かとう たかゆき)