

- 課題名 「 微小タンパク質結晶X線回折装置の開発 」
- 代表者名 「 加藤博章 」
- 提案機関名 「 京都大学大学院薬学研究科 」

研究の目標・概要	
1. 共同研究の主旨	医薬品開発などの標的となる重要なタンパク質について、数10ミクロン程度の微小な結晶でもX線解析を可能とするため、タンパク質結晶の精密X線解析に実績のある京都大学グループが提案したX線回折装置について、実験室用X線結晶解析装置の世界トップシェアを有する理学電機株式会社と共同開発し、放射光X線を用いての限界評価と改良を行い、実験室X線装置へのダウンサイジングを実現すること。
2. 目標	○1年目の目標：高精度回折計の試作と装置評価結晶系の調製 ○2年目の目標：実結晶計測による高精度回折計の評価とセンタリングシステムの検討・試作、およびシステム全体の再検討 ○3年目の目標：完成品の製作と最終評価
3. 内容	数10ミクロン程度の微小結晶でも照射X線の中心に絶えずポジショニングが可能な、偏心精度と角度精度が極めて高いφ軸ゴニオメーター、微結晶のセンタリング用の高精度ステージ、位置確認を容易にする高解像度の顕微鏡系を開発する。
4. 共同研究体制	京大側が装置の基本設計の提案、および実結晶を用いた性能評価を行い、理学電機が装置のシステム開発と製作を行う。なお、性能評価では、理研の協力によりSPring-8等を利用して限界性能を評価する。

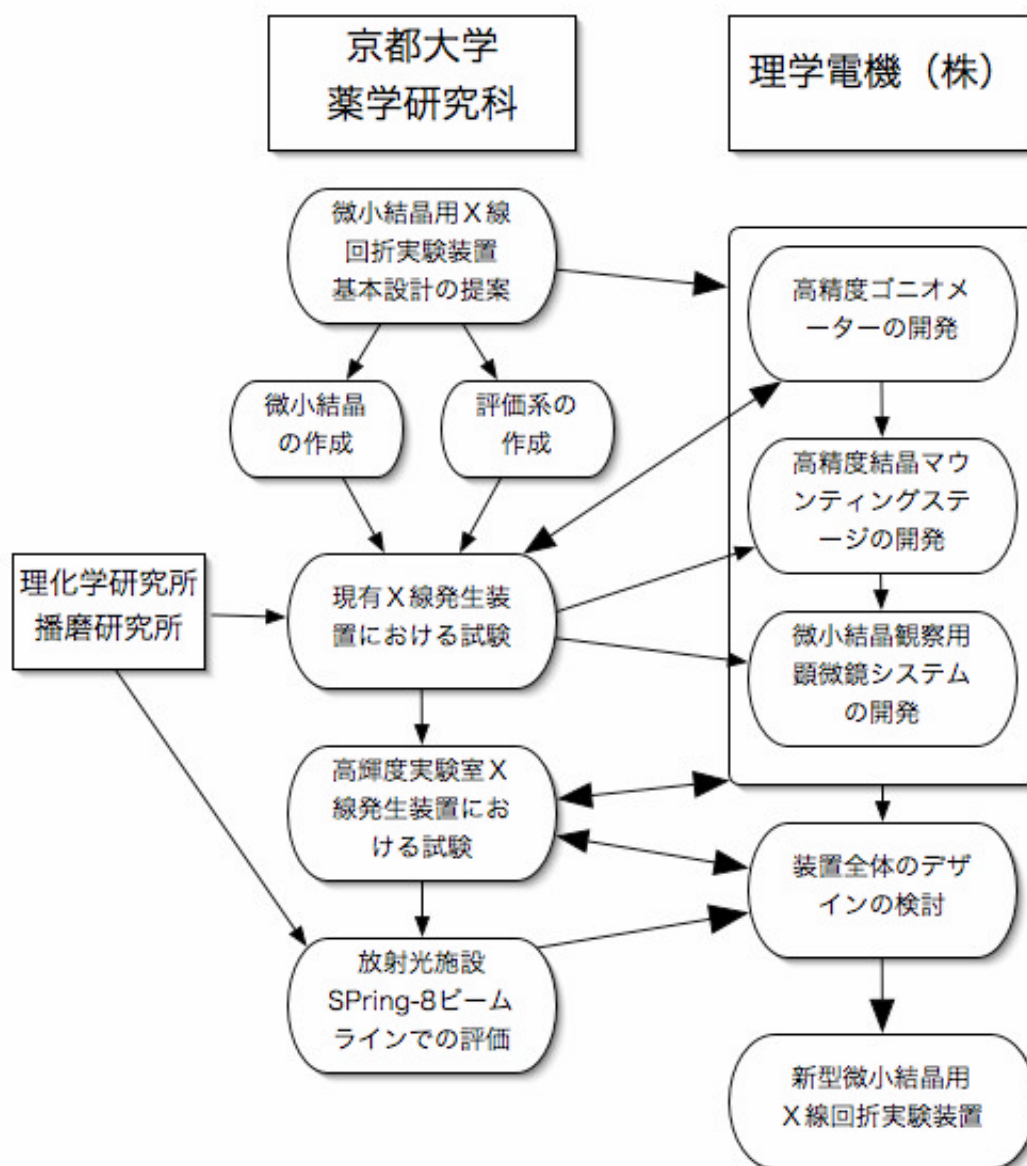
研究開発の現状等
過去10年間で、X線発生装置、光学系、検出器の著しい進歩により、X線の強度は100倍以上に向上した。したがって原理的には、微小なタンパク質結晶の測定が十分可能な状態にある。しかし、結晶を装置へと装着するための回折計、センタリング系などは旧来通りのため、微小結晶の測定が実現していない。一方、放射光施設では、実験室とはケタ違いに高輝度の放射光X線が利用可能であるが、同様の事情で微小結晶を用いた測定例は、ほとんどなく、海外でわずかに報告されているのみである。

研究の進展・成果がもたらす利点
医薬品開発の標的となる重要なタンパク質は、結晶構造の決定においても熾烈な競争があり、大きな結晶へと成長させる前に微結晶の状態でもX線回折測定を可能とする装置の開発は、競争に打ち勝つ重要な技術となる。そして、ポストゲノムの重点分野であるタンパク質の立体構造決定において、一気に優位に立つことができると期待される。微小結晶へに対応可能な高精度位置制御の技術は、大きな結晶の中で結晶性の優れた部分のみにX線を照射することも可能にすることから、これまで、測定不可能だった多くの結晶を利用できるようにする。幸い、我が国のX線解析装置の環境は、トップシェアメーカーの存在、世界最高輝度の放射光施設SPring-8の存在など優位な点が多く、試料装着法の改良だけで解析装置全体の革命的な進歩を実現できる。また、この装置は、タンパク質以外のナノ材料の物性評価など他の分野でも活躍すると考えられる。

実施体制

- 課題名 「 微小タンパク質結晶X線回折装置の開発 」
 ○代表者名 「 加藤博章 」
 ○提案機関名 「 京都大学大学院薬学研究科 」

京大グループが微小結晶を用いた装置評価系を構築する。また理学電機グループが高精度ゴニオメーターおよび高精度結晶マウンティングステージの試作を行う。試作機を理研の既存高輝度X線発生装置において性能評価を行い必要な改良を加える。その後、京都大学と理学電機により実験室系高輝度型X線発生装置に組み込み、微小結晶に対する性能試験を行い、改良を加える。さらに理研の協力により、SPring-8のビームラインに持ち込み、ここでの限界性能試験も合わせて行う。その後、実験室系のX線発生装置と組み合わせた新型解析装置を作製する。



課題説明

- 課題名 「 微小タンパク質結晶X線回折装置の開発 」
 ○代表者名 「 加藤博章 」
 ○提案機関名 「 京都大学大学院薬学研究科 」

タンパク質のX線結晶解析の問題点

- 膜タンパク質は結晶化が困難：
微結晶にしかならないことが多い。
- 時間分割X線結晶構造解析：
反応の同調には微結晶が良いのだが。

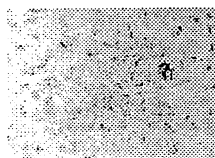
京大・院薬
設計提案と評価

理学電機（株）
装置の設計製作

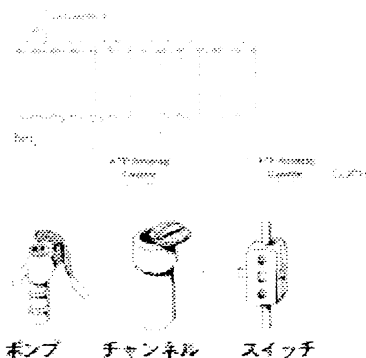
微小結晶測定用システムの開発

1. 偏心精度と角度精度が極めて高い
φ軸ゴニオメーターの作成
2. 微結晶のセンタリング用高精度
ステージの作成
3. 高解像度の顕微鏡系の作成

理研の協力による
高輝度X線源での
装置性能評価



微小結晶



ポンプ チャンネル スイッチ

医学的に重要なタンパク質ほど結晶化が難しい

微小結晶利用が可能になれば

- 重要タンパク質の立体構造
解析が推進される。
- 時間分割X線結晶構造
解析の適用範囲が拡大される