



委35 - 1



# 高品質タンパク質結晶生成宇宙実験 成果の概要と評価結果について

平成18年10月4日

高品質タンパク質結晶生成宇宙実験 評価委員会

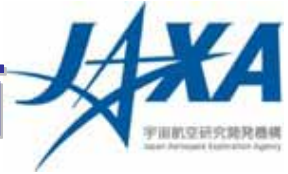
委員長 中嶋 暉躬

宇宙航空研究開発機構 宇宙環境利用センター

主幹開発員 小林 智之



# 高品質タンパク質結晶生成宇宙実験計画

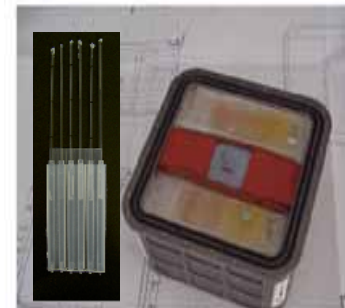


## ■ 目標

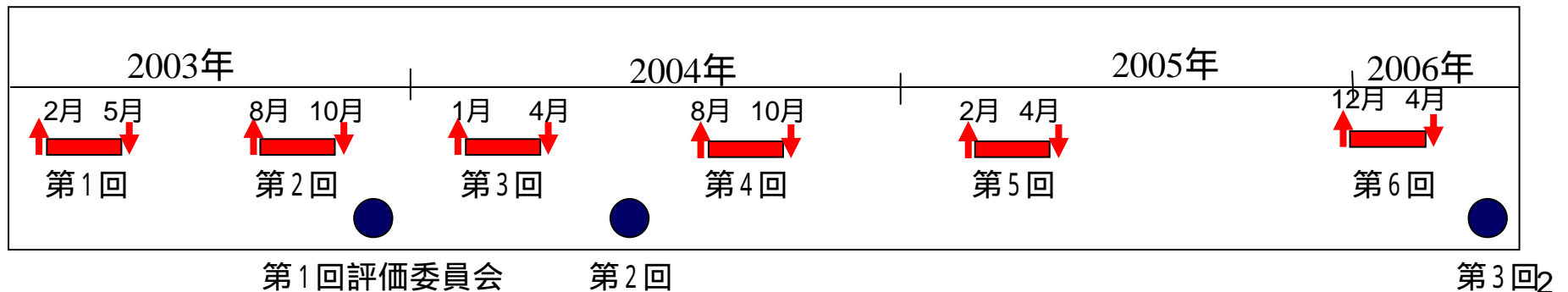
- (1) ISSでタンパク質の高品質な結晶を生成する技術の確立
- (2) 搭載要望受付から宇宙実験回収までのプロセス及び実施体制の整備
- (3) タンパク質構造解析研究への貢献



国際宇宙ステーション



結晶生成セルと結晶生成装置





# 高品質タンパク質結晶生成実験 実施成果



## (1) ISSでタンパク質の高品質な結晶を生成する技術の確立

- 1装置あたりの試料搭載数をこれまでに比べ大幅(約16倍)に向上させた宇宙実験装置を開発(タンパク質1種類あたりの宇宙実験コストの大幅削減)。
- 宇宙実験準備、結晶取扱技術の開発により、地上実験に比べて品質の高い結晶を宇宙実験により生成する技術を確立(約60%の結晶で回折分解能データが向上)。

## (2) 搭載要望受付から宇宙実験回収までのプロセス及び実施体制の整備

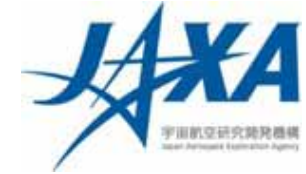
- 利用者からの搭載要望受付から、宇宙実験を経て、結晶回収に至るまでの一連の作業を、定常的に運用できる標準的な手順及び実施体制を整備。
- 標準化した手順及び実施体制により、標準4ヶ月/最短1.5ヶ月の準備で宇宙実験を実現(過去の宇宙実験の準備期間は数年)。

## (3) タンパク質構造解析研究への貢献

- 創薬の標的としているタンパク質の精密な構造データが得られ、新規医薬品の開発に貢献。
- 改良したいタンパク質の精密な構造データが得られ、タンパク質の機能改良に貢献。
- タンパク3000プロジェクトへの貢献(新規構造解明及びより精密な構造の取得)



## 外部有識者による評価の実施

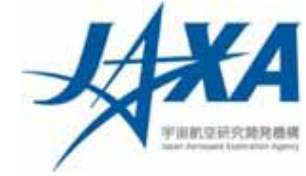


開発・整備した技術・プロセス・体制がタンパク質構造解析の研究者にとって、有効な手段になり得るかという視点で、外部有識者による評価を実施した。

委員長	中嶋 暉躬	星薬科大学 学長、東京大学 名誉教授 (日本薬学会名誉会員、元日本薬学会 副会頭)
委員	大島 泰郎	東京薬科大学 名誉教授 共和化工(株) 環境微生物学研究所 所長 (タンパク3000プロジェクト推進委員会 主査)
	勝部 幸輝	大阪大学 名誉教授
	田中 勲	北海道大学大学院 先端生命科学研究院 教授
	新村 信雄	茨城大学大学院 教授
	西島 和三	日本製薬工業協会 研究開発委員会 専門委員 (科学技術・学術審議会 研究計画・評価分科会 研究評価部会 委員)
	廣田 洋	理化学研究所 ゲノム科学総合研究センター タンパク質構造・機能解析グループ プロジェクト副ディレクター
	水野 洋	NECソフト(株) 主席研究員
	渡辺 公綱	産業技術総合研究所 生物情報解析研究センター長



# 評価結果



## (1) 高品質タンパク質結晶生成技術は、タンパク質構造解析研究にとって有効である

- 地上より高品質な結晶を宇宙実験で取得する技術が安定して機能。
- 宇宙実験計画の後半では、高品質結晶の得られる事例が増加。
- 医薬品開発等への応用に向けたタンパク質解析研究に対し、新しい有効な結晶生成手法を提供。

## (2) ISSを利用した結晶取得までのプロセスは、利用者にとって十分に機能している

- 半年毎に継続した宇宙実験を一定品質で実現。
- 利用者の研究開発のサイクルに対応可能な宇宙実験を実現。

## (3) 利用者のタンパク質構造解析研究に対して有効な成果が出ている

- 新たな立体構造の解明や精密な構造の取得により利用者の研究への貢献事例が増加。
- 高品質結晶取り扱い技術や高品質な結晶生成率の向上を目指した取り組みを行い、更なる貢献を目指すことが重要。



## 提言



これまで蓄積した技術をもとに、更なる改善・発展を図り、結晶化が難しいタンパク質も含め、今後もタンパク質構造解析研究の進展に寄与するために、以下を提言する。

- ・今後活発化される創薬研究や学術研究等に向け、継続した宇宙実験機会を提供。
- ・国家的に取り組まれる疾患・膜タンパク質等に関連する研究機関との連携による成果の創出。
- ・疾患・膜タンパク質等で成果をあげるための結晶生成技術の開発。
- ・ISSを利用した高品質な結晶生成のための技術データベースの整備



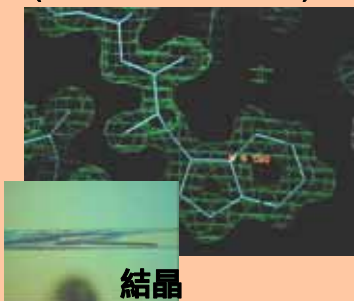
# < 参考1 > タンパク質の高品質な結晶の価値



## 高品質結晶から詳細な構造が判明

- アルファアミラーゼの例 -

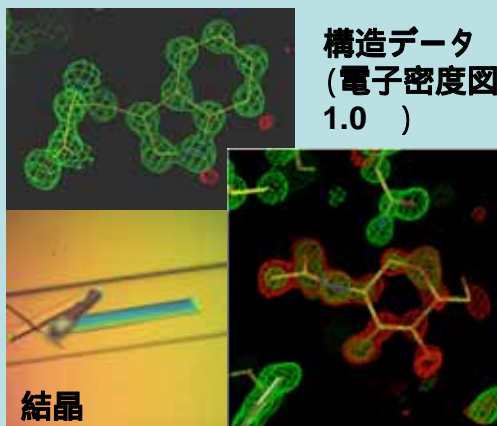
構造データ  
(電子密度図 1.4 )



結晶

地上実験

構造データ  
(電子密度図 1.0 )



結晶

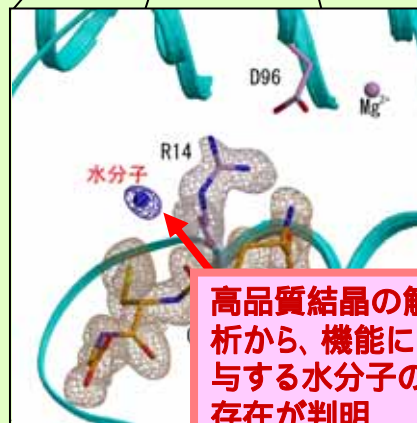
宇宙実験

高品質な結晶から詳細な構造データの取得が可能

- 不明確な原子を新た可視化可能
- 既知の原子の位置がより詳細に判明

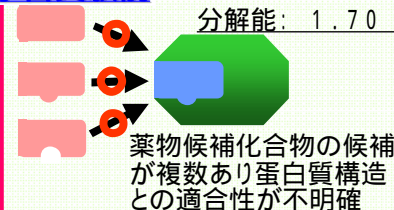
## 詳細な構造の薬物候補化合物 の設計への応用

- 大阪バイオサイエンス研究所の例 -

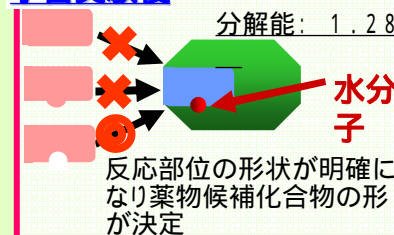


高品質結晶の解析から、機能に  
関与する水分子の  
存在が判明

宇宙実験前



宇宙実験後



- ・高品質な結晶による構造解析の結果から、機能に  
関与する水分子の存在が判明
- ・タンパク質の反応部位の形(鍵穴)が明確化
- ・鍵穴に合致する薬物候補化合物(鍵)が  
設計可能



## < 参考2 > 実施結果 — 高品質タンパク質結晶生成技術の確立(1/2) —



ゲルチューブ法 高密度化セル

### (1) 実験装置・新規結晶生成手法(ゲルチューブ法)の開発

- ・宇宙実験に適したゲルチューブ法と利用シミュレーションを開発。本法は特許を取得し、通常の研究ツールとして利用が拡大。
- ・ゲルチューブ法の改良により、高密度化セルを開発し、約16倍のタンパク質試料数の搭載を実現。



### (2) 宇宙実験準備

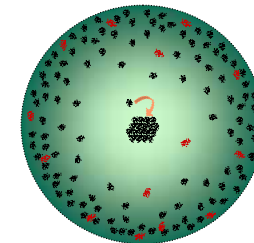
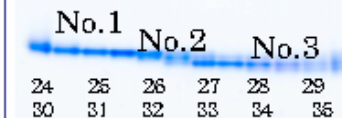
#### 試料評価方法の整備

- ・従来の純度評価に加え、表面電荷特性評価による評価法を導入し、高品質な結晶の生成に有効な評価方法を整備。

#### 微小重力の有効性を引き出す条件設定

- ・結晶化溶液を高粘度にして、地上と比較して、品質の高い結晶が得られることを実証。

電気泳動により試料の精製度を評価する。



粘度が高い溶液ほど微小重力環境が有効

### (3) 結晶取扱技術

- ・X線回折実験に向けた結晶取り出し技術を開発。
- ・凍結データベースの利用による凍結技術を整備。

民間企業1社がこれらの技術を活用し、宇宙実験を含むタンパク質構造解析研究支援事業の準備に着手





# < 参考3 > 実施結果 — 高品質タンパク質結晶生成技術の確立(2/2) —



## 搭載タンパク質数の向上

	実験計画開始時の 結晶生成セル	JAXAが開発した 結晶生成セル
1セルあたりの搭載 可能なタンパク質数	1種類	12種類
結晶生成装置への 搭載可能なセル数	14セル	19セル
結晶生成装置への 搭載可能な タンパク質数	14種類	228種類
結晶生成セル		



**結晶生成装置**

### 装置の特徴

- ・小型/軽量
- ・高密度
- ・宇宙飛行士の操作は不要、軌道上では、インキュベータに保管のみ。



# < 参考4 > 実施結果



## - 実験受付から宇宙実験回収までのプロセスの整備 -

試料受付から宇宙実験回収まで6~8ヶ月で実施できる手順を整備

■ : JAXAの役割  
◆ : 利用機関の役割

タンパク質試料  
発現・精製



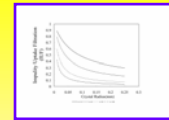
試料受付

試料品質評価

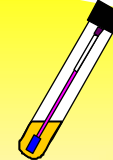


ゲル電気泳動

フライト前適合性試験



1次元シミュレーション  
高粘性結晶化溶液の適用 ゲルチューブ法



必要に応じ国内充填

・拡散制御技術の開発



射場作業

・準備作業の標準化・効率化



手順を標準化。  
手順書を整備。

構造解析



SPring-8等での回折データ取得支援



©SPring-8



帰還後の結晶観察



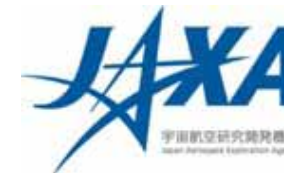
宇宙実験

・ゲルチューブ法による生成セルの開発  
・高密度結晶生成ユニットの開発  
・帰還時の温度維持技術





## < 参考5 > 実施結果 - 利用者の研究への貢献 -



疾病に関連したタンパク質の成果  
- 製薬企業 -

製薬に直結したタンパク質構造の有用な知見が得られ、新規医薬品の開発に貢献。

大阪バイオサイエンス研究所

アレルギー疾患や睡眠疾患に関与するタンパク質への阻害剤の有効性が確認され製薬企業と共同で医薬品の開発を進めている。



企業A社

活性中心の電子密度が観測できる構造データを宇宙実験の結果から取得。



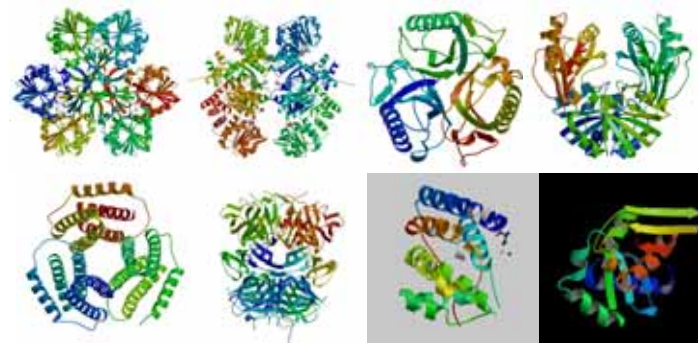
企業B社

薬物候補化合物とタンパク質の結合様式の解明に向けて構造解析中。



タンパク3000プロジェクトに関連したタンパク質の成果  
- 理化学研究所・大学(拠点) -

未知の基本的生命現象に関与するタンパク質等の新規構造の解明、及び、分解能の向上により精密な構造データを取得。



機能性タンパク質の成果  
- 企業C社 -

機能性タンパク質のこれまでで最高分解能の構造データが得られ、タンパク質の機能向上に向け改良中。

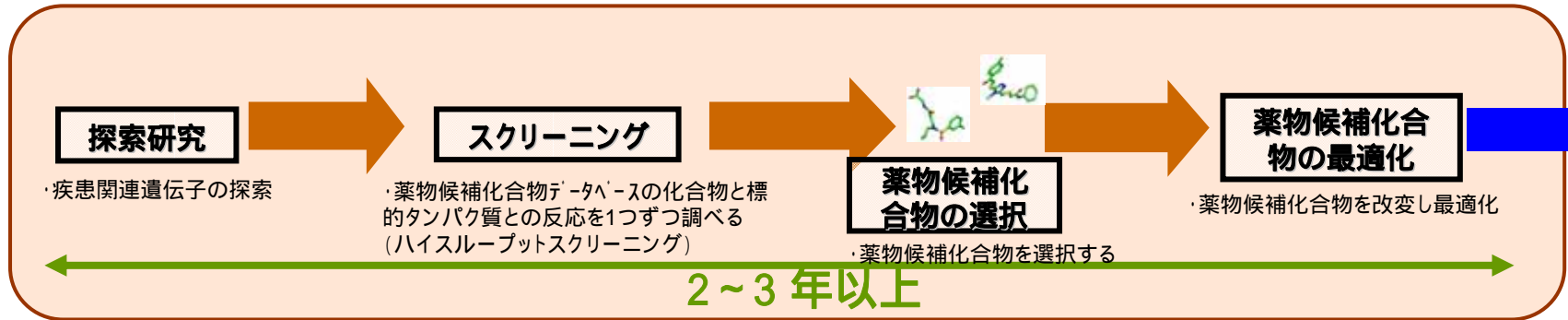




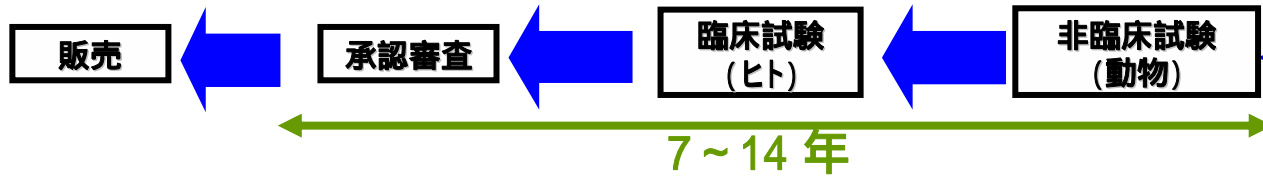
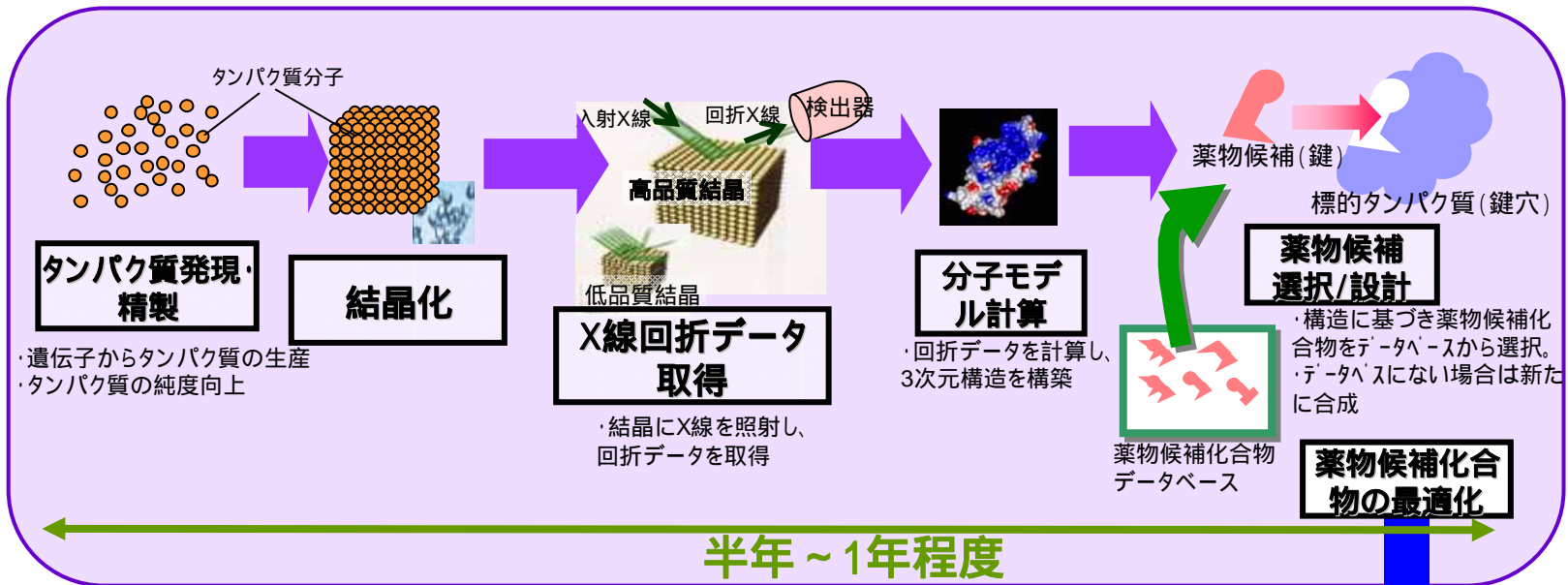
# < 参考6 > タンパク質立体構造解析に基づく 医薬品開発・販売までの流れ



通常の薬物候補決定

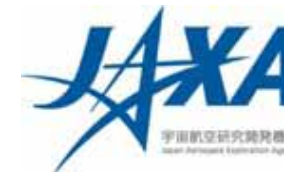


タンパク質立体構造解析を使った薬物候補決定





## < 参考7 > 利用機関との利用枠組み



### < 作業分担 >

利用機関	<ul style="list-style-type: none"> <li>・タンパク質試料の準備</li> <li>・タンパク質結晶の構造解析による結晶特性の評価</li> </ul>
JAXA	<ul style="list-style-type: none"> <li>・結晶化条件の検討</li> <li>・宇宙実験装置の整備及び打ち上げ、軌道上運用、回収作業</li> </ul>

### < 成果 >

利用機関	<ul style="list-style-type: none"> <li>・タンパク質の発現・精製法</li> <li>・タンパク質結晶の構造及び座標データ</li> </ul>
JAXA	<ul style="list-style-type: none"> <li>・結晶化条件の検討システム技術</li> <li>・軌道上結晶生成システム技術</li> </ul>



# < 参考 8 > JAXAと利用機関の役割分担

