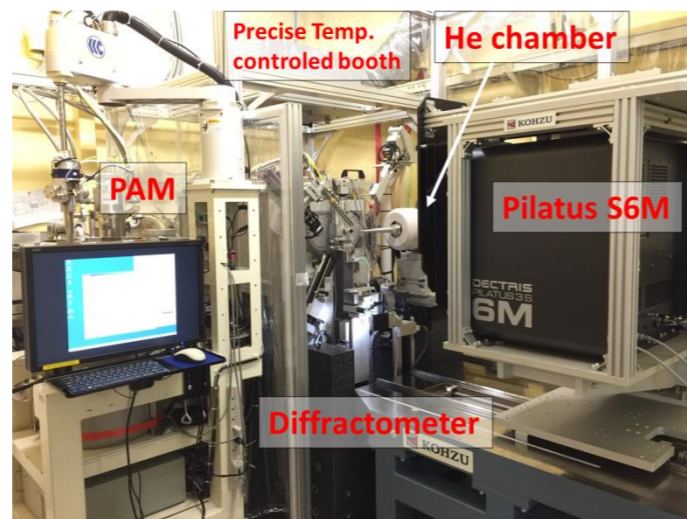


Photon Factory タンパク質結晶学ビームライン

[技術の概要]

Photon Factoryでは、結晶のサイズや構造解析の手法に適したビームラインを選び、共通化されたインターフェースで効率的に回折データ収集を行うことができます。

経験者に対してはビームタイム供給、初心者・希望者に対しては実験から解析までサポートします。また、リモートアクセスによる実験も可能です。



BL-17A 実験ステーション

支援に供する設備名

高エネルギー加速器研究機構・タンパク質結晶学ビームライン(BL-1A、BL-5A、BL-17A、AR-NW12A、AR-NE3A)

[技術の利用例]

- 10ミクロン程度の微小結晶からの回折データ収集
- 低エネルギーX線を用いたS-SAD位相決定
- 超低エネルギーX線による異常分散シグナルを利用した分子中の軽原子の同定
- 結晶化プレートからの回折スクリーニング、回折データ収集
- オンライン分光測定(予定)
- 大強度ビームによるハイスループットデータ測定およびスクリーニング
- 全自動回折データ収集・データ処理

連絡先

[所属] 高エネルギー加速器研究機構

[名前] 松垣直宏、山田悠介

[E-mail] naohiro.matsugaki@kek.jp

yusuke.yamada@kek.jp

低エネルギーSAD法

[技術の概要]

強力かつ高品質な低エネルギーX線を利用し、ヘリウム環境下での回折データ収集を行うことで、天然タンパク質結晶からの微弱な異常散乱シグナルを用いて位相決定を行います。



完全ヘリウム環境下での実験が可能なBL-1Aの回折計

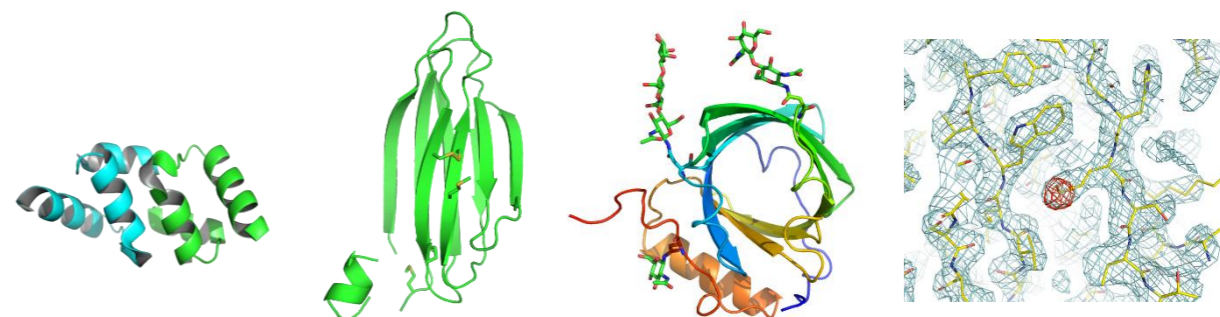
試料のマウントからデータ収集、データ処理/解析までサポートします。

支援に供する設備名

ビームラインBL-1A、BL-17A

[技術の利用例]

- 重原子ラベルの困難な高難度タンパク質の構造解析
- 迅速構造決定
- 原子種の同定
- 低分解能データでの主鎖トレースの確認



BL-1Aにて構造決定されたタンパク質

連絡先

[所属] 高エネルギー加速器研究機構

[名前] 松垣直宏、山田悠介

[E-mail] naohiro.matsugaki@kek.jp
yusuke.yamada@kek.jp

SPring-8遠隔自動実験支援システム

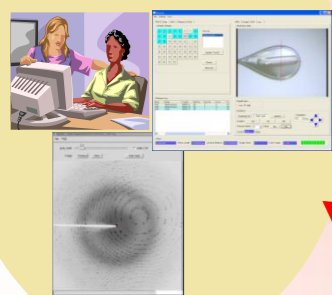
[技術の概要]

- SPring-8に出張せずにデータ収集が可能。
- 凍結試料をビームラインに宅配便で送付。
- 実験条件はWEBで指定、測定データはネットワーク経由でダウンロード。
- BL26B1&B2を利用した自動データ収集。

システム概念図

①凍結結晶試料送付

利用者(サイト外)



②インターネット経由で実験

認証サーバー

ビームライン

SPring-8

機器制御サーバー



③データダウンロード

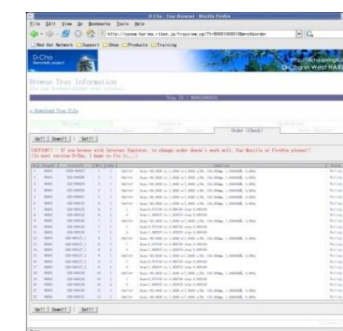
試料データベース

2種の実験形態をサポート

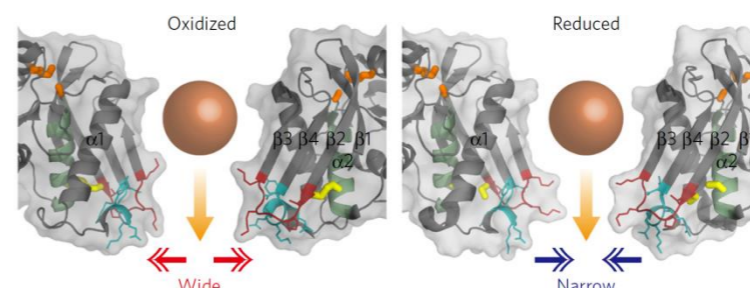
- 1) メールイン・データ収集→オペレータ介助による実験代行
- 2) 遠隔実験→より柔軟かつリアルタイムに実験を実施

[技術の利用例]

メールインデータ収集では、多数のタンパク質結晶試料を高効率でスクリーニングし、良質な結晶について自動データ収集を実行できます。下記の例では得られたデータから構造解析を行った結果、異なる状態にある分子の立体構造変化をとらえることに成功しました。



上) WEBデータベースD-Cha
実験条件や試料情報を管理



左) 酸化型および還元型Lon
プロテアーゼの分子内チャ
ンバー出口付近の結晶構造

参考文献:

"A Redox Switch Shapes the Lon Protease Exit Pore to Facultatively Regulate Proteolysis," Nishii Wataru et al., Nature Chemical Biology, 11, (2015) 46-51

連絡先

[所属] 理化学研究所

[名前] 上野 剛

[E-mail] ueno@spring8.or.jp

SPring-8高難度タンパク質結晶構造解析

[技術の概要]

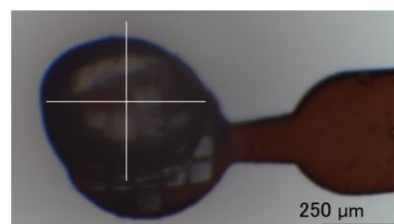
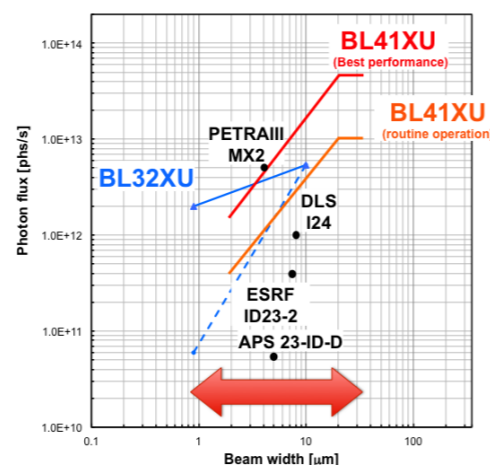
SPring-8では、あらゆるサイズの試料結晶に対して世界最高強度のマイクロビームを用いた回折データ収集が可能

支援メニュー

- ・ ビームライン利用、測定支援

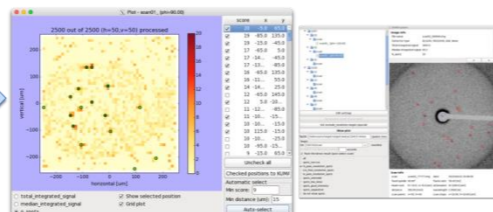
支援に供する設備名

- ・ BL32XU(高輝度微小ビーム)
- ・ BL41XU(広いビームサイズ領域)

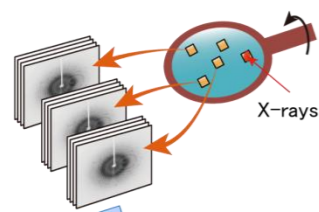


多数の微小結晶がマウントされたループ

高速スキャン

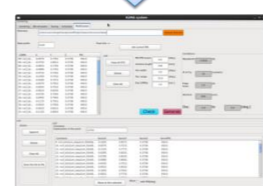


結晶位置の自動決定



マージして構造解析

高輝度ビームを利用するための測定ツール



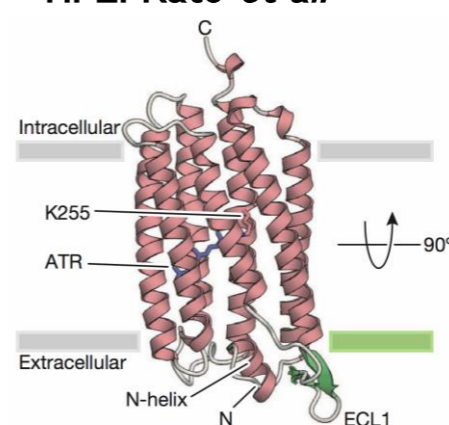
測定条件決定

1. タンパク質微小結晶を高速検出器で探索
2. 放射線損傷を考慮した高効率・高精度・迅速データ収集

[技術の利用例]

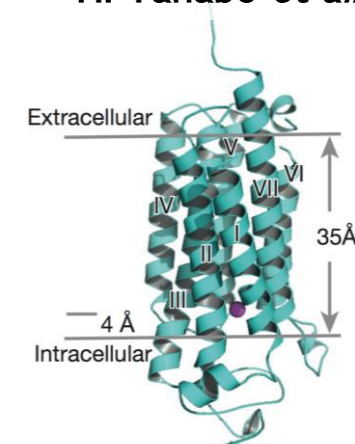
高難度タンパク質結晶構造解析では、LCP法等により結晶化した数十ミクロン以下の膜タンパク質微小結晶から、高分解能構造解析に成功しています。

KR2
(光駆動型Na⁺ポンプ)
H. E. Kato *et al.*



Nature, 521, 48–53 (2015)

AdipoR1/R2
(アディポネクチン受容体)
H. Tanabe *et al.*



Nature, 520, 312–6 (2015)

連絡先

- [所属] 1. 理化学研究所
2. 高輝度光科学研究センター

[名前] 平田邦生¹、長谷川和也^{1,2}

[E-mail] hirata@spring8.or.jp

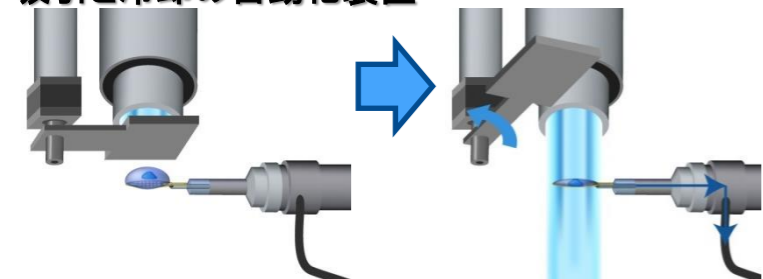
kazuya@spring8.or.jp

非標識タンパク質構造解析 (S-SAD法)

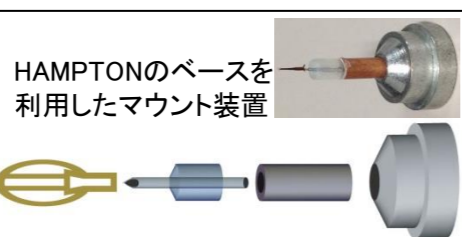
[技術の概要]

S-SAD法は、イオウの異常散乱を利用して構造解析を行う方法である。タンパク質を標識する必要がないので重原子置換ができない結晶に対し、特に有効である。この方法では異常散乱シグナルを強めるために長波長X線を使うが、その際に、結晶周りの溶液による吸収を抑える必要がある。S-SAD法用に開発した「溶液フリー結晶マウント装置」、「自動吸引冷却装置」は、いずれも放射光施設に設置済みであり、これを利用した回折データ収集および構造解析の支援を行う。

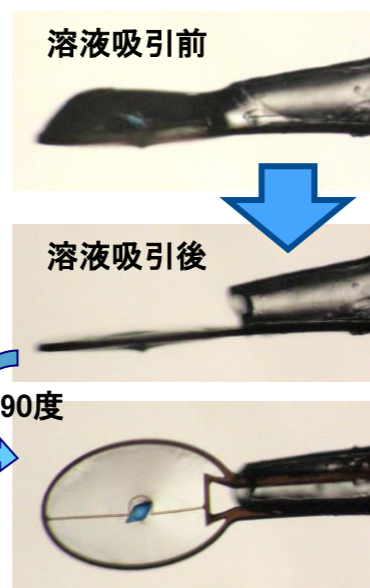
吸引と冷却の自動化装置



自動吸引装置



HAMPTONのベースを利用したマウント装置



溶液吸引前

溶液吸引後

90度

支援に供する設備

- ・S-SAD用溶液フリー結晶マウント装置 (PF、SPring-8)
- ・S-SAD用自動吸引冷却装置 (PF、SPring-8)
- ・あいちシンクロトロン光センター ビームラインBL2S1
- ・Crターゲット回折装置 (北海道大学大学院先端生命科学研究院)

[技術の利用例]

S-SAD法による構造解析例
(PF長波長ビームラインBL1A)

SmDG

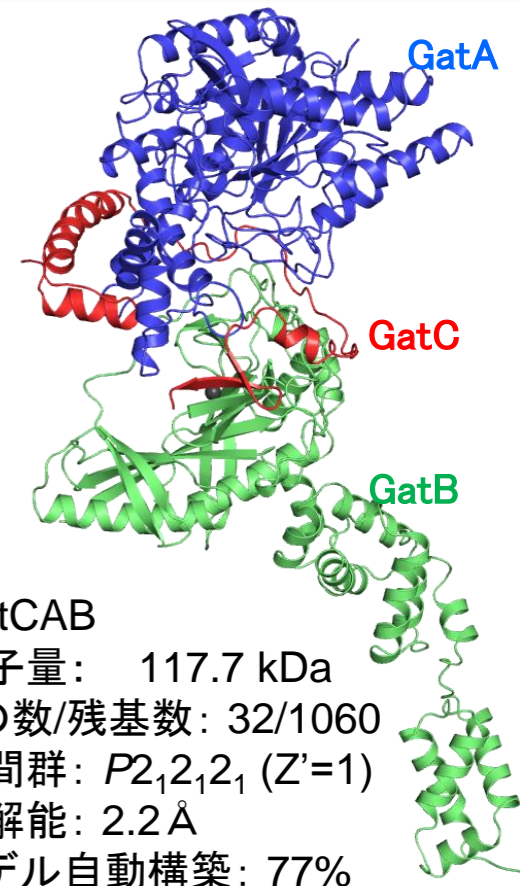
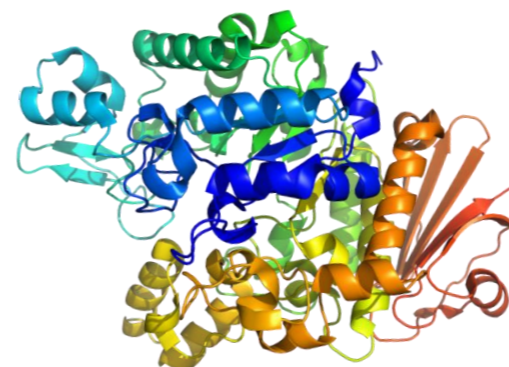
分子量: 56.2 kDa

Sの数/残基数: 22/543

空間群: $P2_12_12_1$ ($Z'=1$)

分解能: 2.4 Å

モデル自動構築: 79%



GatCAB

分子量: 117.7 kDa

Sの数/残基数: 32/1060

空間群: $P2_12_12_1$ ($Z'=1$)

分解能: 2.2 Å

モデル自動構築: 77%

連絡先

- [所属] 1. 北海道大学大学院先端生命科学研究院
2. 名古屋大学シンクロトロン光研究センター

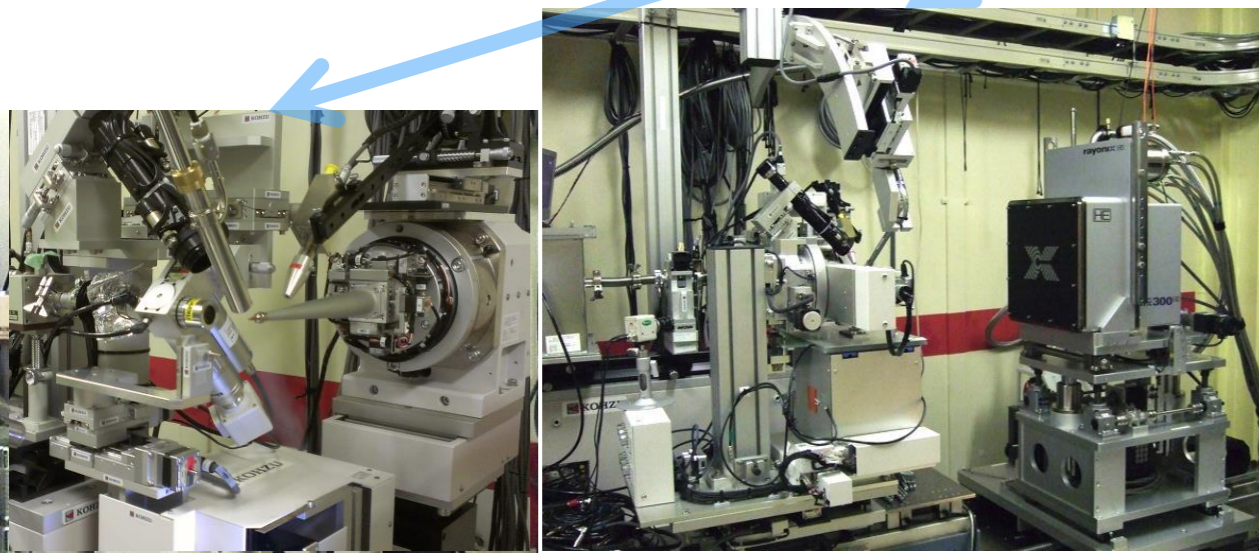
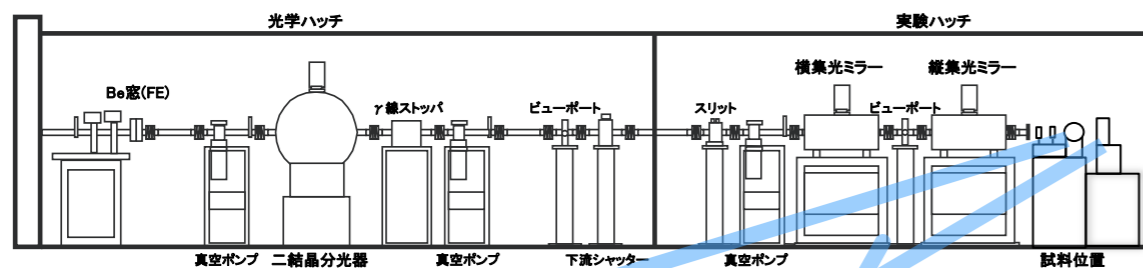
[名前] 田中 勲¹、姚 閔¹、渡邊信久²

[E-mail] tanaka@castor.sci.hokudai.ac.jp
yao@castor.sci.hokudai.ac.jp
nobuhisa@nagoya-u.jp

生体超分子複合体構造解析ビームライン

[技術の概要]

SPring-8 生体超分子複合体構造解析ビームライン
(BL44XU) (蛋白研ビームライン)

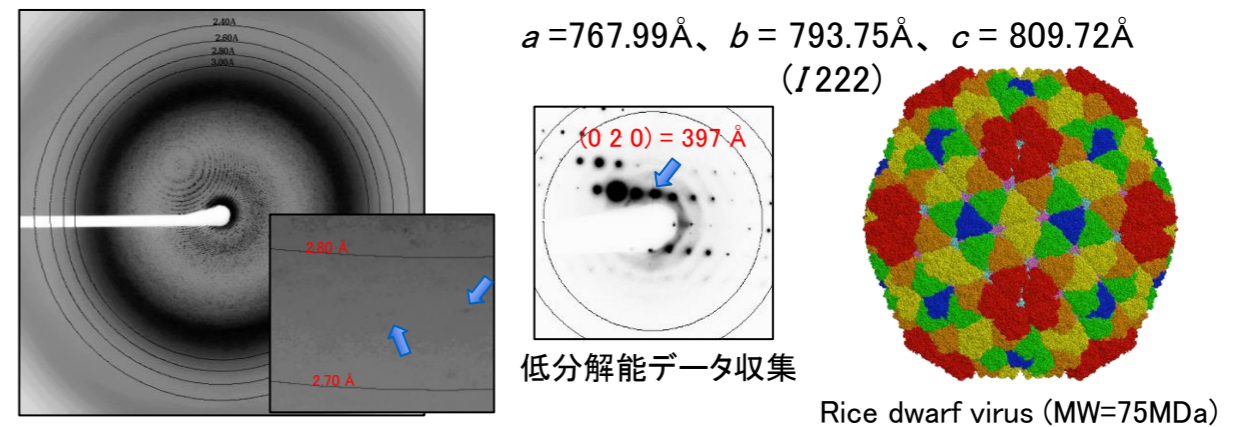


500Åを超える長格子定数結晶や分解能の低い結晶、膜蛋白質結晶などからの高精度な回折強度データ収集と構造解析(超高分解能データ収集も可能)

- 2000Åの格子定数の結晶から3.7Å分解能のデータ収集が可能
- 光学系のレイアウト変更なしで0.7Å以上の高分解能データ収集が可能

[技術の利用例]

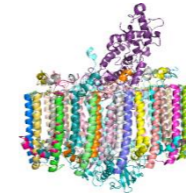
巨大なウイルス結晶からの回折強度データ収集



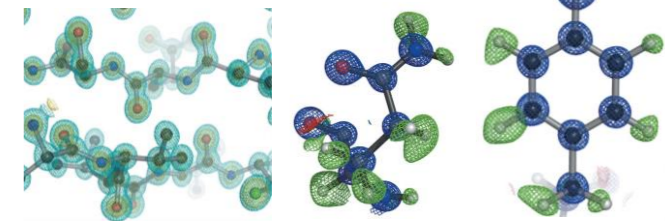
高分解能データ収集

膜蛋白質複合体の構造解析

LH1-RC 複合体
(MW=393KDa)



超高分解能データ収集



連絡先

[所属] 大阪大学蛋白質研究所

[名前] 中川敦史

[E-mail] bladmin@protein.osaka-u.ac.jp