

タンパク質のX線構造解析

Protein Structure Determination by X-Ray Crystallography

独自のスクリーニング試薬で結晶化のヒット率を向上させます！

タンパク質のX線結晶構造解析において、発現系構築からデータ処理・解析までをトータルでサポートいたします。特に、結晶化におきましては、全自動結晶化・観察ロボットシステム“TERA”を導入し、独自のスクリーニング用試薬およびスクリーニング手法の適用により、結晶化のヒット率を向上させております。

1 目的タンパク質についてヒアリング

水溶液タンパク質 or 膜タンパク質、野生型 or 変異型、研究目的などをお伺いします。

2 発現ベクターの構築・大量培養

※コドンの最適化、変異の導入
※ドメイン領域の最適化
※発現系（大腸菌、昆虫細胞、動物細胞）の選択

<ドメイン領域の最適化>

目的に応じて、発現させるタンパク質の配列をデザインします。機能を持たないドメインを除去することで可溶化を促進することができます！

3 精製

※Ni²⁺、GST アフィニティークロマト、イオン交換クロマト、ゲルろ過クロマトによる精製
※動的光散乱の測定

<動的光散乱>

精製したサンプルは、動的光散乱法でタンパク質の会合状態が均一であるかを測定し、結晶化に適したサンプルであるか評価を行います。

4 結晶化または共結晶化

※ 蒸気拡散法、マイクロバッチ法
※ 結晶化スクリーニング（～1,000 条件）
※ 条件の最適化（分解能>3オングストローム）
※ 共結晶化：Co-Crystallization法、Soaking法
※ 抗凍結（クライオ）条件の決定

5 X線回折データの収集

※放射光：あいちSR光、SPring-8、SLS（スイス）
※インハウスX線回折装置：RAXIS-7/FR-E

6 データ処理

※ XDS, HKL2000

7 立体構造解析

※分子置換：Molrep
※タンパク質および複合体構造のモデリング：Coot
※精密化：CCP4-Refmac

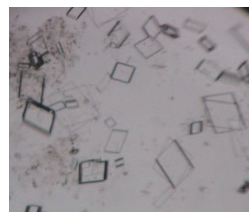
■【実施例】共結晶化（複合体の結晶化）

Co-Crystallization法

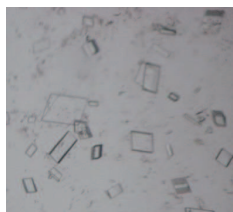
タンパク質溶液に化合物（粉末あるいはDMSOで溶解した溶液）を過剰量添加し、共結晶化を行います。



タンパク質単結晶



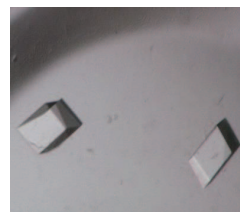
タンパク質・化合物A 共結晶



タンパク質・化合物B 共結晶



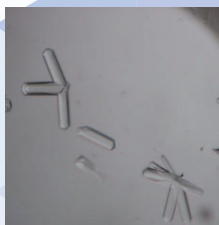
タンパク質・化合物D 共結晶



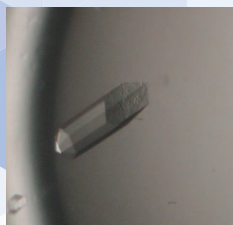
タンパク質・化合物C 共結晶

Soaking 法

タンパク質の単結晶を、『沈殿剤溶液（結晶が得られた溶液組成）＋化合物』の溶液に浸し複合体を形成させます。



タンパク質単結晶



タンパク質・化合物 1 共結晶

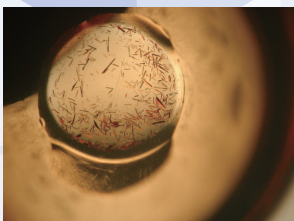


タンパク質・化合物 2 共結晶



タンパク質・化合物 3 共結晶

■【実施例】約100残基のアミノ酸の結晶化



約100残基のアミノ酸の結晶化例



左の結晶に重原子ソーキングを行った例

■ 仕様・価格・納期

実施内容	実施期間	概算費用(円,税別)
1. 発現ベクターの構築・大量発現 ・大腸菌での発現ベクター構築と大量発現	約2ヶ月	¥ 280,000~ ¥ 560,000
2. 精製 ・Ni ²⁺ , GST-fusion等のアフィニティカラムクロマト, イオン交換カラムクロマト等による精製 ・動的光散乱法(DLS)による精製後蛋白質の凝集状態の評価	約1ヶ月	¥ 430,000~ ¥ 560,000
3. 結晶化, 共結晶化 ・スクリーニング; 1,000条件(20℃と4℃で各500条件) ・結晶化条件の最適化	約1ヶ月	¥ 560,000~ ¥ 860,000
・共結晶化; SoakingまたはCo-crystallization法 (3種類の化合物までは同一料金, Apo体の結晶化条件は既知)	約0.5ヶ月	¥ 280,000~ ¥ 430,000
4. X線回折データの収集とデータ処理 ・抗凍結条件の決定; クライオストリームによる凍結の確認 ・放射光を利用したX線回折データの収集 (あいちSR, SPring-8, SLS等を利用) ・データ処理	約1ヶ月	¥ 860,000~ ¥ 1,720,000
5. 立体構造解析 ・分子置換法による構造解析 ・構造のモデリングと精密化	1~2ヶ月	¥ 1,430,000~ ¥ 2,150,000
・化合物と蛋白質複合体の立体構造解析 (Apo体の構造は解析済みの場合)	1~2ヶ月	¥ 430,000~ ¥ 720,000



株式会社ファーマフーズ アプロサイエンスグループ

〒770-0865 徳島県徳島市南末広町4-53 エコービル4階

■Tel: 088-678-6372 ■Mail: bio@apro-s.com

■Url: <https://apro-s.com/>

本社 〒615-8245 京都府京都市西京区御陵大原1-49

販売店