



タンパク質構造・機能解析のための 高品質タンパク質結晶生成プロジェクト

High-Quality Protein Crystallization Project for Protein Structure and Function Analyses in Support of Practical Applications



宇宙環境を利用したタンパク質結晶生成実験

宇宙航空研究開発機構（JAXA）は、国際宇宙ステーション（International Space Station: ISS）の日本の実験棟「きぼう」による本格的な宇宙環境利用の先駆けとして、2003年から2005年にかけて計6回、タンパク質の結晶生成実験をISSのサービスモジュールで実施しています。

このプロジェクトは、タンパク質構造・機能解析に関する国のプロジェクトを推進する研究機関や大学およびゲノム創薬に取り組む民間企業等との協力により進めています。本実験は、地上において良質な単結晶を得ることが難しいタンパク質やより高精度な解析が必要なタンパク質について、宇宙環境の利点を生かして結晶生成実験を行い、タンパク質構造・機能解析に関わる研究やその応用に貢献することを目的としています。

Protein Crystallization Experiments in Space

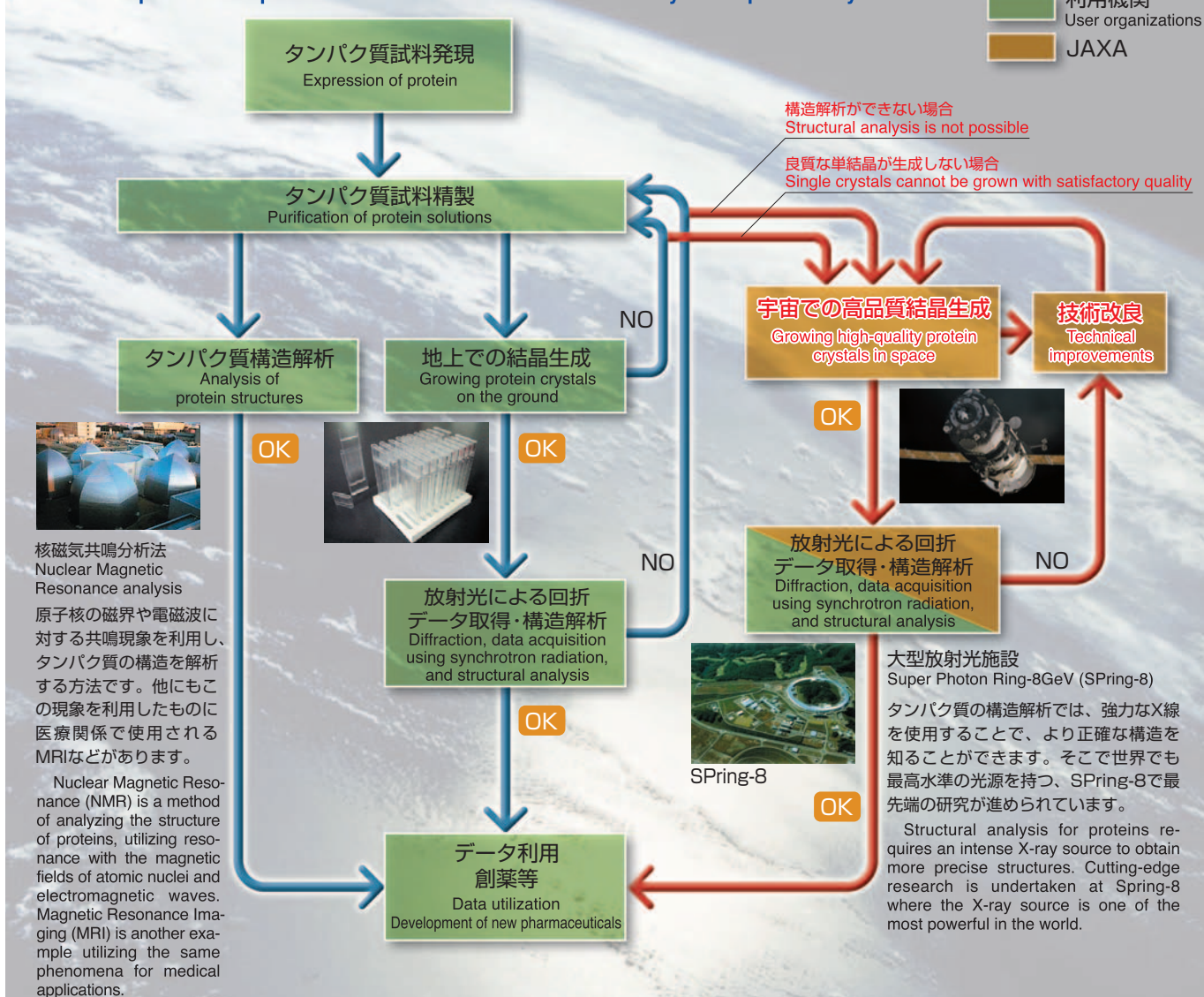
To prepare for the full-scale use of Kibo, the Japanese Experiment Module (JEM) that will be attached to the International Space Station (ISS), the Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA) will perform a series of six experiments in space from 2003 through 2005. These experiments grow protein crystals aboard the Service Module of the ISS.

JAXA is conducting this project in cooperation with research organizations and universities that analyze the structures and functions of proteins as part of a national project. It is also working with private-sector companies that seek to create genome-based pharmaceuticals. It is difficult to grow good single crystals of proteins on the ground that are suitable for more precise analyses. In such cases, crystal growth experiments will be conducted in a space environment. Afterward, the protein structures and functions will be analyzed on the ground, and the results will be utilized in practical applications.

タンパク質結晶を用いた構造・機能解析と宇宙の関わり

Relationship between space and the function and structure analyses of protein crystals

利用機関
User organizations
JAXA



タンパク質の構造・機能解析の意義

2003年4月に人間の遺伝情報であるヒトゲノムの解読が完了し、次の段階としてこれらの遺伝子を基に作られるタンパク質の構造と機能の解明（ポストゲノム研究）が進められています。タンパク質の機能を知るには、そのかたち（立体構造）を原子レベルで明らかにすることが重要です。これは多くの場合、タンパク質の構造が機能と密接な関係を持っており、立体構造を詳細に解析することがタンパク質機能の解明につながるためです。

人間の生命活動は約10万種のタンパク質によって支えられているといわれますが、未だこれらのタンパク質の多くは、その構造が明らかにされていません。様々なタンパク質の構造を解析し、その働きを解明することによって、様々な生命現象のメカニズムを明らかにできるものと期待されています。また、タンパク質の多様な機能を応用し、特定のタンパク質の働きを活性化あるいは阻害するといった医薬品の開発への応用等が可能になります。このようなポストゲノム研究を応用した、タンパク質の立体構造に基づく薬剤の分子設計（Structure-Based Drug Design:SBDD）の手法を用いた医薬品の開発に、製薬企業等の関心が高まっています。

Significance of Protein Structure and Function Analyses

In April 2003, it was announced that the human genome had been completely decoded. Research has now moved to the next step, post-genome research, which involves identifying the structures and functions of proteins made based on genes. In order to learn more about protein functions, it is extremely important to clarify the three-dimensional protein structure at the atomic level. In most cases, the structure of a protein is closely related to its function, so in-depth analysis of the three-dimensional protein structure is being linked to the study of protein functions.

Human life is supported by nearly 100,000 different kinds of proteins, most of whose structures are still unknown. By analyzing the structures of many different kinds of proteins and understanding how they interact with one another, it may become possible to identify various mechanisms involved in life phenomena. It should also become possible to inhibit or activate functions of certain proteins to develop new pharmaceuticals.

Pharmaceutical companies are becoming increasingly interested in using the results from post-genome research to develop new medicines using Structure-Based Drug Design (SBDD).

第1～3回の宇宙実験結果 Results of Space Experiment #1～#3

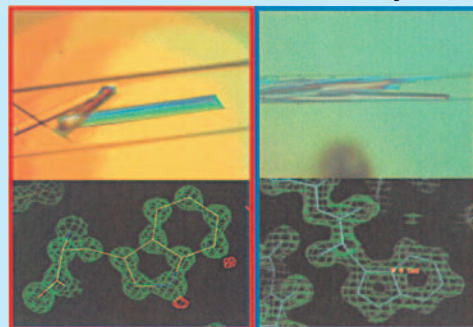
第1回から3回までの宇宙実験でアルファアミラーゼおよびリゾチームをJAXAの技術検証用タンパク質として搭載しました。その結果、同種のタンパク質としては、世界最高レベルに匹敵する分解能の結晶を取得し、超精密な構造解析を実施中です。

また、利用機関の蛋白質のうち、一部のタンパク質（例：睡眠物質およびアレルギー物質合成酵素、寄生虫感染症に関わるタンパク質など）についても、宇宙で生成した高品質な結晶から、これまでにない最高分解能のデータを取得し、今後、創薬の開発が期待されています。

Through the first, second and third space experiments, JAXA launched proteins of alpha-amylase and lysozyme to validate the developed crystallization technique. As a result, high-quality protein crystals with the best resolutions in the world were successfully obtained, and the structure was analyzed closely and carefully.

In some of the proteins (e.g., sleeping and allergy material synthetase, and proteins related to symptoms of parasite infection) provided by user organizations, we also obtained the highest resolution data from the fine protein crystal grown in space; this is expected to lead to pharmaceutical development in the future.

SPring-8 BL12B2でデータ取得
Data obtained at SPring-8 BL12B2



宇宙で結晶化
Crystallized in Space

地上で結晶化
Crystallized on the Ground

アルファアミラーゼの結晶と電子密度図（解析中）
Crystals of alpha-amylase and electron density map (in process)

宇宙空間の実験を可能にするISS ISS Enables Experiments in Space

ISSは、幾つものモジュールで構成された「宇宙の研究所」です。現在、ロシアのサービスモジュールや米国の実験モジュールにおいて、様々な宇宙実験が行なわれています。

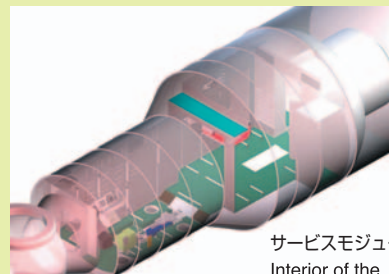
ISS is an "in-space laboratory" composed of many modules. A variety of space experiments are currently performed in Russian Service Module and US Experiment Module.

サービスモジュール Service Module

タンパク質結晶生成実験が行われるロシアのサービスモジュール「ズヴェズダ（ロシア語で“星”という意味）」は、2000年7月に打ち上げられました。

サービスモジュールは、ISS内の環境維持や姿勢制御、および地上との通信など、中核的な役割を果たします。また、ソユーズ宇宙船や無人のプロGRESS補給船との自動ドッキングも可能です。

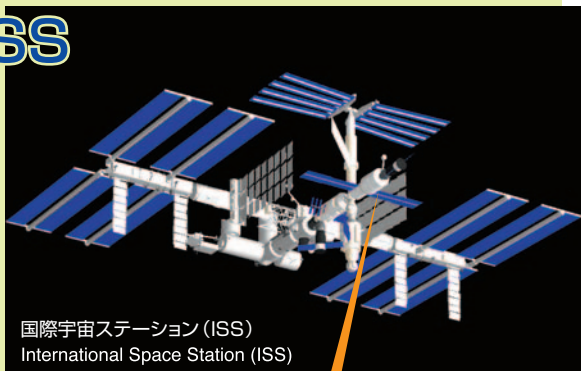
The Russian Service Module "Zvezda" (meaning "star" in Russian) where GCF experiments are conducted was launched in July 2000. Zvezda provides essential functions aboard the ISS, such as life support, flight control, and communications with flight controllers on the ground. It also enables automatic docking to Soyuz spaceships and Progress supply ships.



サービスモジュール内部
Interior of the Service Module



居住スペースとしても利用されるサービスモジュール
The Service Module is being used as a living space



国際宇宙ステーション (ISS)
International Space Station (ISS)



ロシアのサービスモジュール「ズヴェズダ」
Zvezda, the Russian Service Module

プロGRESS補給船 Progress supply ship

プロGRESS補給船は、ソユーズ宇宙船を改良し、自動・無人化した貨物輸送機です。タンパク質結晶生成実験装置（GCF）は、燃料、酸素、水、食料、衣服、修理用の部品、郵便などと共にプロGRESS補給船で輸送されます。また、プロGRESS補給船は、ISSへドッキング後、自らの推進システムによりISSの軌道維持を行います。

The Progress supply ship (an improved Soyuz spaceship) is an automated, unmanned transport ship. It transports GCF as well as fuel, oxygen, water, food, clothing, spare units, and mail. Progress functions as a propulsion system for the ISS by boosting its orbit, after docking to the ISS.



プロGRESS補給船
The Progress supply ship

ソユーズ宇宙船 Soyuz spaceship

ソユーズ宇宙船は、宇宙飛行士や貨物をISSへ運ぶロシアの有人貨物船です。ソユーズ宇宙船は、宇宙飛行士の緊急帰還に備え、常時ISSにドッキングしています。約6カ月毎に新しいソユーズ宇宙船が打ち上げられ、古いソユーズ宇宙船と交換されます。

宇宙での実験を終えたGCFは、この帰還するソユーズ宇宙船に乗って地上へ戻ります。

Soyuz is a manned Russian spacecraft carrying crew members and cargo from/to the ISS. One Soyuz is docked to the ISS at all times to serve as an emergency escape vehicle. A new Soyuz is launched every six months and replaces the old Soyuz. Once the on-orbit experiment is completed, a Soyuz returns the GCF to the ground.



ソユーズ宇宙船
The Soyuz spaceship

宇宙におけるタンパク質結晶化

Protein Crystallization in a Space Environment

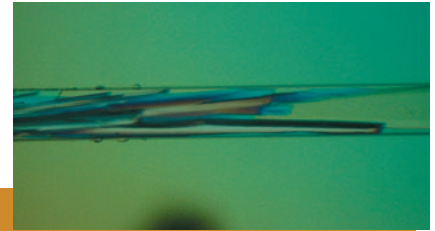
分子量の大きいタンパク質の立体構造を調べる方法として、タンパク質の結晶にX線を当てる結晶解析法が一般的に用いられます。タンパク質の結晶にX線を当てると、X線は結晶によって反射・散乱されます。この反射・散乱から得られるX線回折像はタンパク質の種類によって特有で、これを分析することで、タンパク質の立体構造を推定できます。高精度で立体構造を知るためには、結晶中のタンパク質の分子がきれいに並んだ結晶が必要となります。タンパク質分子がきれいに並び、X線回折像がはっきりし、タンパク質の立体構造をより正確に知ることができます。

地上でタンパク質の結晶化を行う場合、重力の影響により対流や沈降が発生し、他の結晶と結合したりして、タンパク質結晶の分子配列が乱れ、良質な結晶を得ることは難しくなります。一方、宇宙環境では、重力がほとんど無いため対流や沈降の影響がなくなり、タンパク質の分子がきれいに並び、高品質な結晶を生成することができます。これまで、JAXAが実施したタンパク質結晶化宇宙実験においても、地上より品質のよい結晶を得ることに成功しています。

X-ray crystallographic analysis, in which X-rays are reflected and scattered from a protein crystal, is commonly used to examine the three-dimensional (3-D) structure of large-molecule proteins. X-ray diffraction patterns obtained from the reflection and scattering are protein-unique, so the 3-D structure of the protein crystal can be estimated by analyzing such patterns. More accurate estimation requires that crystals have molecules arrayed in good order. The better the molecules are arrayed, the clearer X-ray diffraction patterns become, and therefore, the more precisely the three-dimensional structure can be estimated.

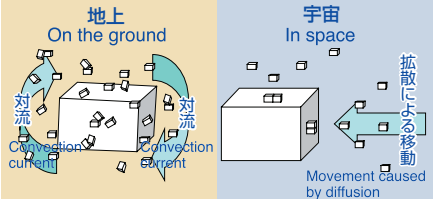
It is difficult to produce high-quality protein crystals on the ground due to convection and sedimentation caused by gravity, which disturb the molecule array by causing crystals to stick to each other. In the space environment, however, high-quality crystals with molecules arrayed in good order can be grown in the near-zero gravity environment that eliminates convection and sedimentation. JAXA has succeeded in growing high-quality crystals, throughout the on-orbit protein crystallization experiments of past missions.

地上で生成した結晶と宇宙で生成した結晶
Crystals grown on the ground and crystals grown in space



地上では、アルファアミラーゼの良質な結晶が得られなかった
No high-quality alpha-amylase crystals have been obtained on the ground.

微小重力下におけるタンパク質結晶生成の有効性の例
Effectiveness of growing protein crystals in the micro-gravity environment of space



宇宙では対流が無くなるため、結晶は静かに成長していく
Crystals can grow undisturbed because there is no convection current in space.



宇宙では、たった1回の実験でアルファアミラーゼの良質な結晶が得られた
It took only one experiment in space to obtain alpha-amylase crystals.

高品質タンパク質結晶を生成する実験装置

高品質タンパク質結晶生成プロジェクトでは、欧州宇宙機関 (ESA) / グラナダ大学 (スペイン) が開発したタンパク質結晶生成装置 (Granada Crystallization Facility : GCF) およびJAXAが開発したタンパク質結晶生成装置 (JAXA Crystallization Facility: JCF) を利用して実験を行います。結晶生成装置には、最大23個の結晶生成セル (Granada Crystallization Box : GCB) と温度記録計が搭載されます。宇宙での結晶化はサービスモジュール内の恒温槽で実施し、ソユーズ宇宙船による帰還時の周囲温度変動対策として、GCFは断熱材により、JCFは魔法瓶方式の真空断熱により、外気温の影響を緩和しています。

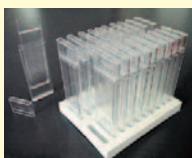
1つのGCBには最大11本のガラス細管 (キャピラリ) が装填され、同時に最大11種類のタンパク質の結晶化実験を行うことが出来ます。

Experimental Facility for Growing High-Quality Protein Crystals

The High-Quality Protein Crystallization Project utilizes the Granada Crystallization Facility (GCF) developed jointly by the European Space Agency (ESA) and Granada University in Spain, and the JAXA Crystallization Facility (JCF) developed by JAXA. GCF and JCF contain 23 Granada Crystallization Boxes (GCBs) at maximum and a temperature data logger.

Proteins are crystallized in space inside an incubator on board the Service Module. When samples are returned to the ground by Soyuz, insulators wrapped around the GCF and JCF, a thermos-like container, isolate the crystallization inside GCBs from fluctuations of ambient temperature.

One GCB has up to 11 capillaries, so 11 different protein crystallization experiments at maximum can be conducted at the same time.



結晶生成セル
(サイズ:36×101×7mm)
Granada Crystallization Box
(Dimensions:33×100×7mm)



JAXA結晶生成装置
(サイズ:φ90×165mm)
JAXA Crystallization Facility
(Dimensions:φ90×165mm)

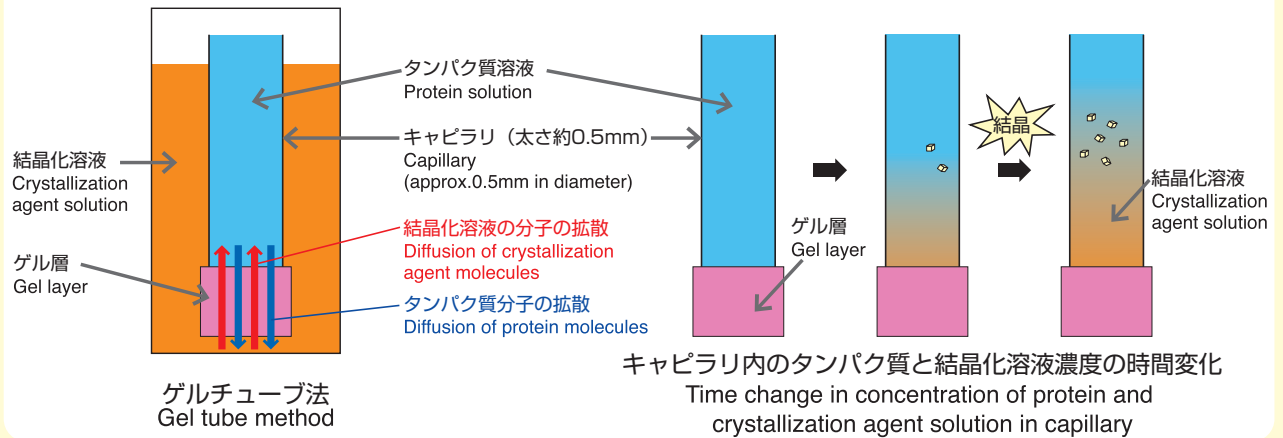


グラナダ結晶生成装置
(サイズ:134×134×84mm)
Granada Crystallization Facility
(Dimensions:134×134×84mm)



真空断熱材 (GCF用)
Vacuum Insulator (for GCF)

液-液拡散法の原理 Principle of the counter diffusion method



GCBを利用する結晶化方法(液-液拡散法)

GCBはゲル層を介して、タンパク質溶液と結晶化溶液がキャピラリー内で反対方向に拡散する液-液拡散法を用いています。タンパク質がキャピラリー外へ、結晶化溶液はキャピラリー内へ拡散し、キャピラリー内にそれぞれの濃度勾配が形成され、その勾配が経時的に変化することによって結晶化に適した条件になった位置・時間で結晶化が始まります。キャピラリー下端に取り付けられたゲルの入ったチューブは、拡散する速度を緩和させる働きをしています。

Crystallization Method used in GCBs (Counter diffusion method)

GCB adopts the counter diffusion method that promotes diffusion of protein solutions and crystallization agent solutions in opposite directions inside capillaries through a gel layer. Protein solution diffuses outward; agent solution diffuses inward. This forms a slope of the two concentrations, and crystallization starts at the point and time where the two concentrations meet the optimum condition for crystallization. The tube, filled with gel and fitted to the bottom of the capillary, moderates the diffusion velocity.

実験内容

JAXAは、タンパク質構造・機能解析に関する国のプロジェクトを推進している研究機関・大学等およびゲノム創薬に取り組んでいる民間企業等との間で、協力協定・共同研究契約を締結し作業を進めています。

これら利用機関から提供されたタンパク質の地上での結晶化条件をもとに、液-液拡散法での結晶化条件を検討し、GCBを用いて地上での適合性実験を実施します。この実験の結果をもとに、宇宙実験での結晶化条件を決定し、タンパク質溶液と結晶化溶液をGCBに充填します。その後、GCBをGCFに装填します。

実験装置は、RSCエネルギー社（ロシア）の支援を受けて、カザフスタン共和国のバイコヌール宇宙基地からプログレス補給船により打ち上げられます。その後、サービスモジュール内に設置され、2～4か月間タンパク質結晶生成を実施したした後、ソユーズ宇宙船によってカザフスタン国内で回収されます。回収されたタンパク質の結晶は、日本へ輸送した後、大型放射光施設等で構造解析に必要なデータの取得、結晶品質の評価および立体構造の解析が行われます。

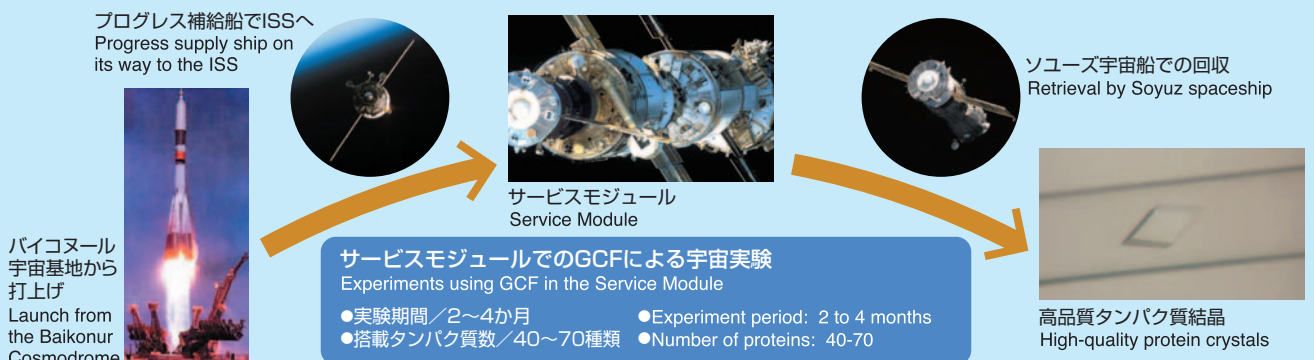
Overview of Experiments

To promote this project, JAXA is forming cooperative agreements and signing joint contracts with organizations and universities researching the structures and functions of proteins as part of a national project. JAXA is also seeking cooperation with private-sector companies striving to create genome-based pharmaceuticals.

First, protein crystallization conditions are investigated using the counter-diffusion method based on ground conditions provided by the contracted research groups. Appropriate experiments are then conducted on the ground. The results are subsequently used to determine the conditions for filling the GCBs with protein and crystallization agent solutions for the experiments in space. After that, the GCBs are loaded onto the GCF.

With the support of RSC Energia Co., Ltd., of Russia, this experiment facility is launched into space aboard a Progress supply ship from the Baikonur Cosmodrome in Kazakhstan. When the GCF reaches the ISS, it is installed inside the Service Module where it is used to grow protein crystals for two to four months. The GCF is then loaded onto a Soyuz bound for Kazakhstan.

The protein crystals in the GCF are shipped to Japan, where they are divided among various contracted research groups. They obtain data needed for structural analyses, assess the quality of the crystals, and analyze the three-dimensional structure of the protein.



今後の計画

JAXAは、タンパク質構造・機能解析分野の研究に取り組む民間企業や国の研究機関・大学等の利用機関に、より多くの実験機会を提供することで、タンパク質の構造・機能解析分野の研究や、その応用となる医薬品開発等へ貢献することを目指しています。

本プロジェクトを通じて、多くの利用者に宇宙での結晶生成実験の機会を提供できるよう、今後も引き続き、JAXAが開発する実験ツールの改善や宇宙での結晶化技術の検証、さらに、利用機関の要望に柔軟に対応できるサポート体制の整備を進めていきます。

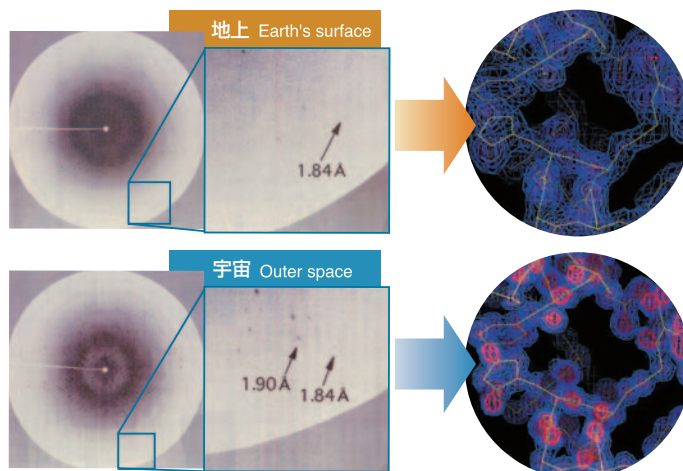


第1回目の軌道上実験で得たタンパク質結晶
Protein crystal obtained during the flight of JAXA's first crystallization experiment

Future Plans

JAXA seeks to make significant contributions to studies in the fields of protein structure and function analyses and pharmaceutical development by providing more opportunities to various user organizations such as private companies and national research institutes and universities.

To enable as many users as possible to participate in-space crystallization experiments, JAXA will continue to promote experiment facility development and to verify the in-space crystallization technique. It will also develop support systems that flexibly respond to users' needs.



X線回折像

地上に比べ、宇宙で得られた高品質な結晶の回折像は、明瞭で回折点の数が多く、立体構造解析に結びつき、詳細かつより多くのデータを得ることができる

X-ray diffraction image

Compared with crystals made on the ground, diffraction images of high-quality crystals grown in space have more as well as clearer diffraction points. This can provide more detailed data closely linked with three-dimensional structural analyses.

今後のスケジュール Future Schedule

2002	2003		2004		2005			
<p>プロジェクト 立ち上げ Startup of the project</p>	第1回 1st	第2回 2nd	第3回 3rd	第4回 4th	第5回 5th	第6回 6th		
	軌道上実験 Space experiments	軌道上実験 Space experiments	軌道上実験 Space experiments	軌道上実験 Space experiments	軌道上実験 Space experiments	軌道上実験 Space experiments		
	打上げ Launch	回収 Retrieval	打上げ Launch	回収 Retrieval	打上げ Launch	回収 Retrieval		
	2月2日 Feb. 2	5月6日 May. 6	8月29日 Aug. 29	10月28日 Oct. 28	1月29日 Jan. 29	4月30日 Apr. 30	8月11日 Aug. 11	10月24日 Oct. 24
	2月頃 February	5月頃 May	2月頃 February	5月頃 May	8月頃 August	11月頃 November		

宇宙航空研究開発機構 宇宙基幹システム本部
〒305-8505 茨城県つくば市千現2丁目1-1
Phone:029-868-3074 Fax:029-868-3950



Home Page URL
<http://www.jaxa.jp/>
<http://iss.sfo.jaxa.jp/>

Japan Aerospace Exploration Agency
Office of Space Flight and Operations
1-1, Sengen 2-chome, Tsukuba-shi Ibaraki 305-8505, Japan
Phone:#81-29-868-3074 Fax:#81-29-868-3950

2004.11.10現在
Updated on Nov. 10, 2004