

国際宇宙ステーション「きぼう」での
**高品質タンパク質
結晶生成実験**

第2期実験シリーズ
民間利用促進コース

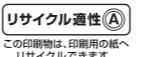
搭載タンパク質 募集要項

民間利用促進コースは
通年募集をしています
※実験機会ごとに締切がございます

独立行政法人
宇宙航空研究開発機構

筑波宇宙センター
〒305-8505 茨城県つくば市千現2丁目1-1
TEL : 029-868-3074 (ISS広報代表)
FAX : 029-868-3950

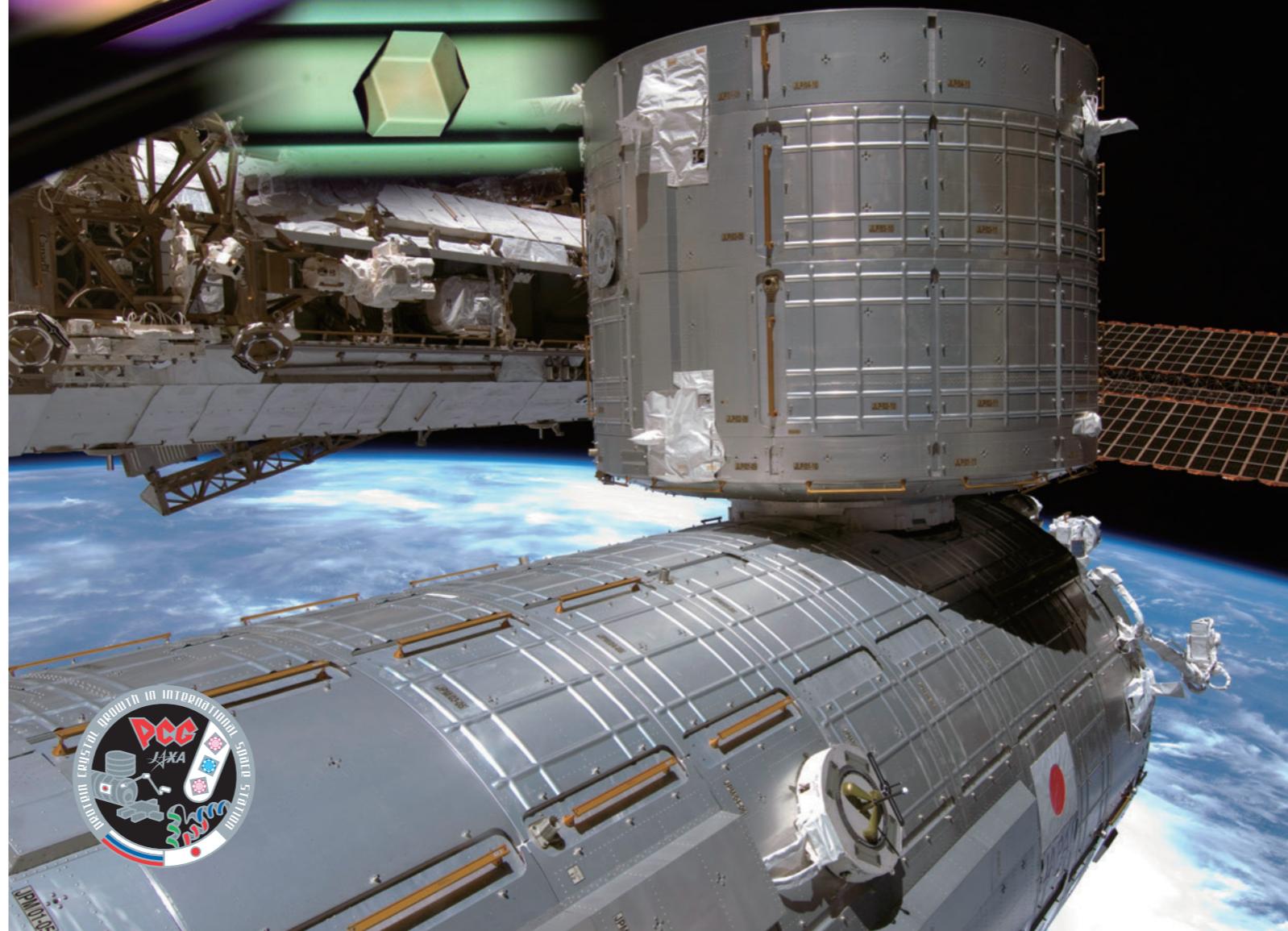
タンパク質結晶生成実験ホームページ
<http://iss.jaxa.jp/kiboexp/theme/first/protein/>
宇宙実験ホームページ
<http://iss.jaxa.jp/kiboexp/>

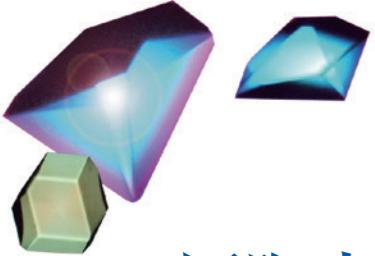


国際宇宙ステーション「きぼう」での
**高品質タンパク質
結晶生成実験**

第2期実験シリーズ
民間利用促進コース

搭載タンパク質 募集要項





国際宇宙ステーション「きぼう」が、実験室になる。

地上から約400km上空に浮かぶ国際宇宙ステーション。

その有人実験施設である「きぼう」日本実験棟で、

JAXAはタンパク質結晶生成実験を行っています。

宇宙の微少重力環境で生成される高品質の結晶が、

タンパク質研究発展の一助となると私たちは考えています。

このプロジェクトをさらに推進するため、

「きぼう」での結晶生成実験を行うタンパク質を広く募集します。

提供いただいた溶液を用いて、「きぼう」で結晶生成を行い、

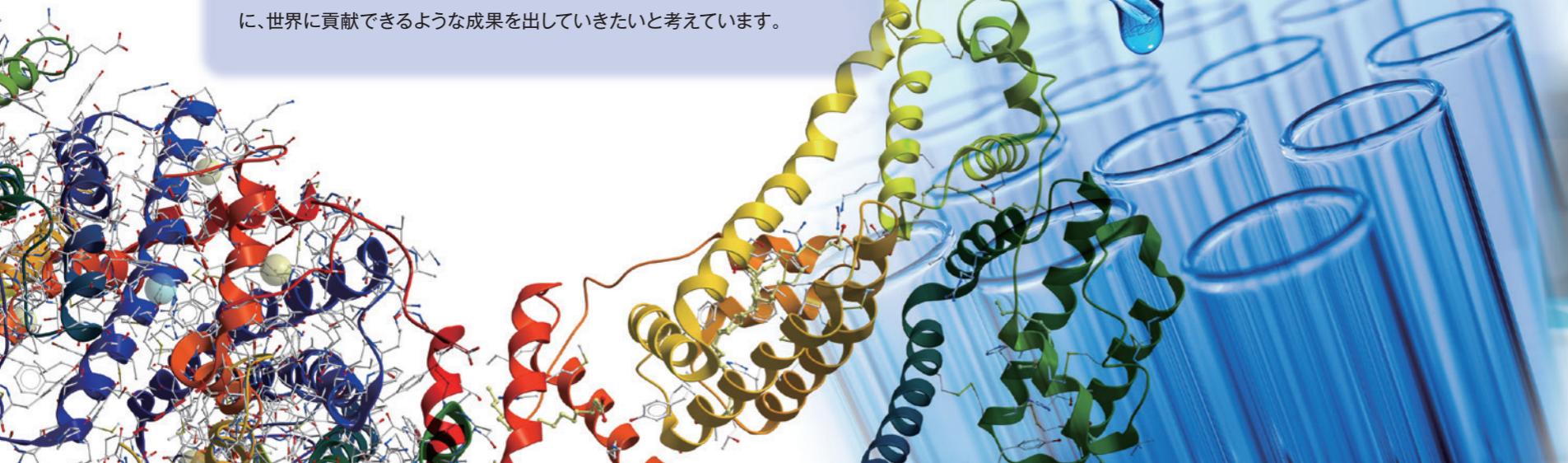
地球への帰還および回収後に回折データを引き渡します。

「きぼう」は、言うなれば日本独自のさまざまな研究を行うことができる宇宙実験室です。

日本全国の多くの研究者の方に利用していただきたい。

私たちJAXAはそう願ってやみません。

JAXAでは2003年からタンパク質結晶生成実験を行い、国際宇宙ステーションでの実験に関するさまざまな技術と経験を蓄積してきました。今後はさらに多くの実験を通じて、日本の科学技術力をアピールとともに、世界に貢献できるような成果を出していきたいと考えています。



この募集要項について

この募集要項は、国際宇宙ステーション「きぼう」日本実験棟でのタンパク質結晶生成実験に向けた、搭載タンパク質の募集に関する情報をまとめたものです。日本国内の民間企業、もしくは企業と連携のある大学・公的研究機関に所属している方から、宇宙実験を行うタンパク質(試料)を広く募集します。

目 次



本プロジェクトについて

- 本プロジェクトの概要・背景 06
- プロジェクト参加のメリット 08
- 第一期実験シリーズでの実績 10



参加のお申込み・審査

- 応募概要・お申込み方法 12
- 審査における評価のポイント 14
- 提出資料について 15



実験に向けた準備

- 実験の準備 22
- 実験準備に関する注意事項 24



宇宙実験の実施

- 実施内容と実験装置について 26



情報の取り扱いについて

- 結晶品質情報の取り扱い 28
- 情報の取り扱いについて 29



その他・参考資料

- 実験室バイオセイフティ指針抜粋 30

プロジェクト全体の流れ

参加の
お申込み・
審査



搭載タンパク質・ テーマ提案の応募

実験を行うタンパク質を広く募集します。
応募に際していくつかの書類を提出していただきます。

実験に
向けた準備



結晶化条件の検討

選定されたタンパク質について、
結晶化条件を絞り込むための地上実験を行います。

宇宙実験
の実施



搭載タンパク質の最終決定

「きぼう」に搭載するタンパク質および
その数量等を決定します。

情報の
取り扱い



宇宙実験の実施

ロシアのソユーズ宇宙船・プログレス補給船で
「きぼう」へと運び、結晶生成実験を行います。

結晶生成状況をご連絡

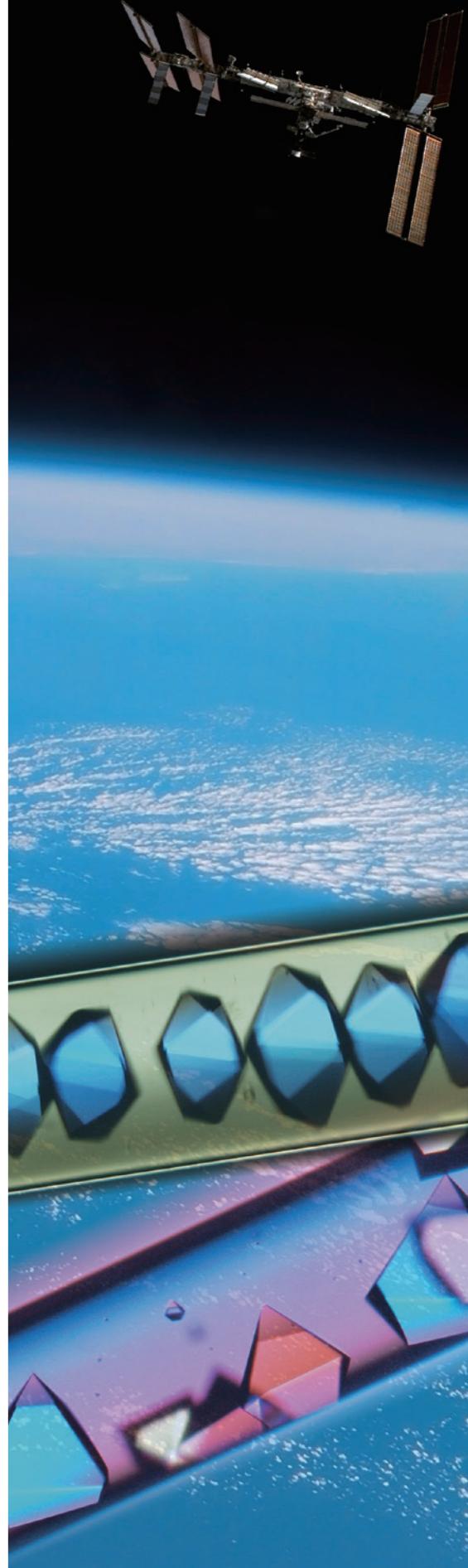
ソユーズ宇宙船で持ち帰った結晶を日本へと運び、外観検査、光学観察等を行い、結晶生成状況をご連絡いたします。

回折データ引渡し

放射光施設のビームラインにおいて、回折データの取得を行い、電子データを引き渡します。

結晶品質情報の提供

今後の宇宙実験に必要な基礎データとして利用させていただきます。





本プロジェクトの概要・背景

本プロジェクトの背景

本プロジェクトは、国際宇宙ステーション「きぼう」日本実験棟において、タンパク質の結晶生成実験を実施するものです。

2009年から2013年にかけて、第1期実験シリーズとして計6回の実験を行い、一定の成果を挙げることができました。それを受け、2013年の後半から、新たに6回の実験を行う第2期実験シリーズがスタートしています。

JAXAがこれまでに蓄積してきた技術と経験を活かして、試料の受付から選定、結晶化条件の検討、宇宙での実験、帰還後の結晶観察、X線"回折"データ取得まで、実験の一連のプロセスをサポートします。

本プロジェクトを通じて、高品質タンパク質結晶生成技術の発展に不可欠な技術要素の開発を継続的に実施し、極めて広範な領域にまたがる日本のタンパク質研究の発展に貢献します。

本プロジェクトの目的

「きぼう」利用機会の拡大による、日本の科学技術力の向上

日本のタンパク質研究の発展に対する貢献

宇宙実験の継続的な実施による成果の創出

募集するタンパク質について

日本国内の民間企業をはじめ、企業と連携のある大学・公的研究機関に所属している方を対象に募集を行ないます。

以下の2つの条件を満たす試料を募集します。

- (1)産業応用への出口戦略が明確で3~5年以内に成果創出が見込めること。
- (2)提案試料が以下のいずれかにあてはまること。
 - ・水溶性タンパク質(細胞内タンパク質、細胞外タンパク質、ウイルス・細菌由来タンパク質)
 - ・一回膜貫通型タンパク質(受容体型チロシンキナーゼ等)
 - ・産業用酵素

参考:標準的な全体スケジュール(第3回実験)



第2期実験シリーズの宇宙実験計画



お問い合わせ先

本プロジェクトに関するご質問・お問い合わせはメールでお気軽に

E-mail: CRYSTAL@jaxa.jp

JAXA宇宙環境利用センター JAXA PCG募集担当 宛



プロジェクト参加のメリット

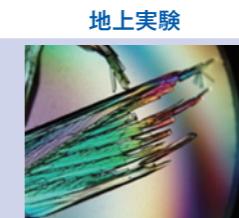
宇宙実験参加のメリット

- 「結晶化に成功したが、結晶品質が低いため構造を決定できない。」
- 「構造解析に成功したが、分解能が低いため詳細な構造を決定できない。」
- 「構造解析ができれば研究・開発が進展するが、結晶解析の技術がない。」

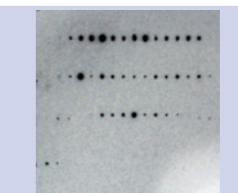
宇宙での結晶生成実験を行うことで、そのような問題が解消されるかもしれません。
宇宙の微少重力環境では、密度差対流が抑制され、タンパク質の濃度勾配が維持されます。
そのため不純物が多くなく分子配列の揃った高品質な結晶が生成される可能性が高まります。
また、JAXA側の事前実験によって得られた情報や、生成された結晶を提案者へ提供するなど、
広く技術支援を行います。
ぜひこの機会をご活用ください。

微小重力環境の効果

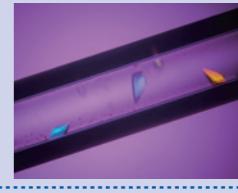
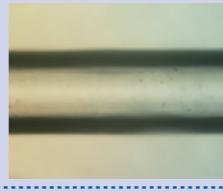
クラスター化の抑制



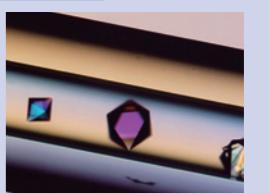
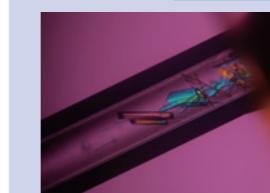
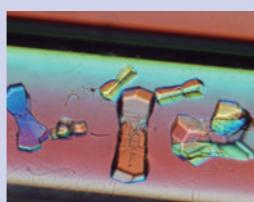
モザイシティの改善



分解能の改善



ツイン結晶の解消



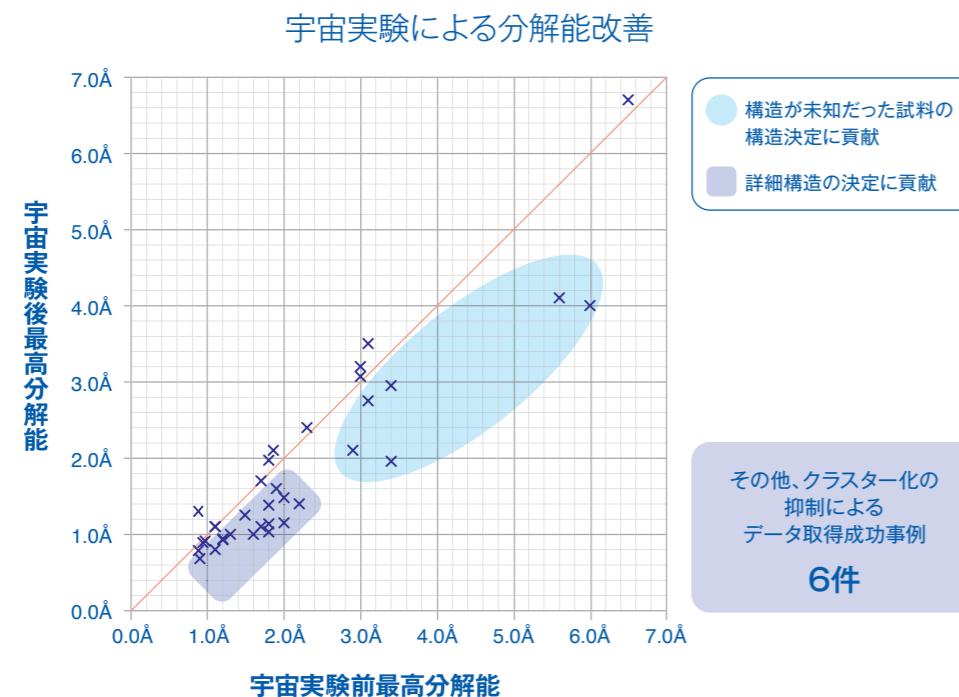
異なる空間群の結晶の生成

宇宙実験による分解能改善実績

第1期実験シリーズ第1回から第5回の成果のまとめ

低分解能およびクラスター化のため回折データの収集・解析が困難な試料について、
その構造決定に貢献できる可能性があります。

1Åを超える超精密構造解析に貢献することも可能です。



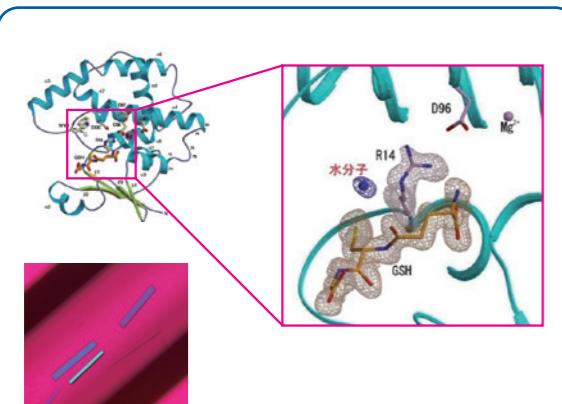


第1期実験シリーズでの実績

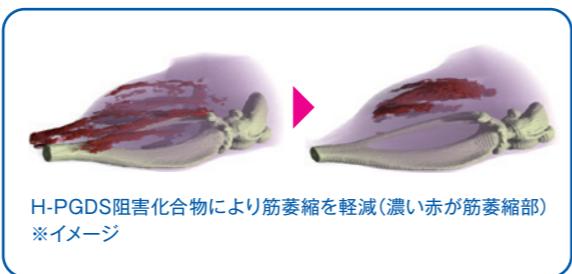
H-PGDS

筋ジストロフィーに関連するタンパク質

薬物候補化合物の設計への応用 (財)大阪バイオサイエンス研究所



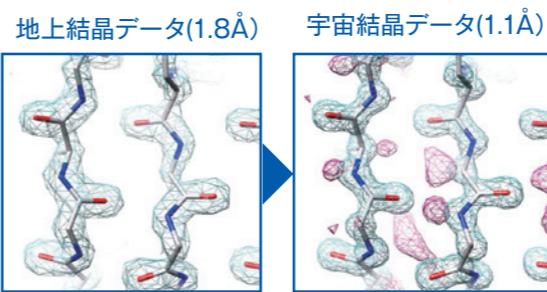
- ・高品質な結晶による構造解析の結果から、機能に関与する水分子の存在が判明
- ・タンパク質の反応部位の形(鍵穴)が明確化
- ・鍵穴に合致する薬物候補化合物(鍵)が設計可能に



- 製薬企業との協力により、筋ジストロフィーに有効な薬物候補化合物を開発し、動物による有効性・毒性の評価を実施中。5年程度で医薬品認証取得を目指す。
- 化合物とタンパク質の結合状況を宇宙実験で得られた結晶により、詳細に確認。

ナイロンオリゴマーを分解するタンパク質

工業的な機能性触媒への応用 兵庫県立大学／大阪大学



赤い部分が水素原子

- ナイロンオリゴマー分解酵素:
ナイロンオリゴマー(プラスチック)を、触媒反応により分解する酵素及び同酵素の変異体と基質との複合体の詳細な構造を解明

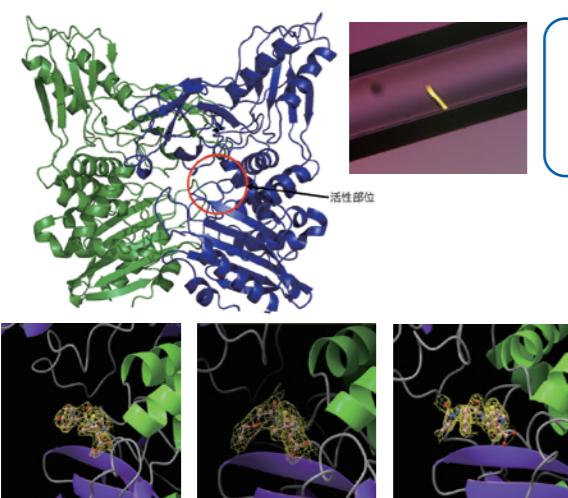
○工業的な機能性触媒としての応用が可能に
触媒機能の向上を図り、3年程度での実用化を目指す

- 加水分解の逆反応を利用し、短時間(5分程度)の反応で有用なナイロンオリゴマーを合成することが可能。
- アシル化アミノ酸の化学合成に関して、効率的で環境負荷の少ない化学合成系への応用が可能。

インフルエンザ菌由来PBP4

抗生素質関連タンパク質

詳細な構造の薬物候補化合物の設計への応用 横浜市立大学／大阪大学



インフルエンザ菌のペニシリン結合タンパク質(PBP4):
インフルエンザ菌由来のペニシリン結合タンパク質の詳細構造を解明

- ・宇宙実験により構造の精度が向上
- ・薬物候補化合物を製作し複合体での結合状況を確認

- 宇宙実験で詳細な構造データを取得。
- 小児の気道感染症の原因菌であるインフルエンザ菌に対する抗生物質として有効な複数の薬物候補化合物を開発し、有効性を確認中。
- 2年程度で動物実験への移行を目指す。
- 薬物候補化合物、抗菌作用に関する生化学データ及び立体構造データをセットにし、製薬企業へのライセンス化に向けた売込みを展開中。

セルロースを分解するタンパク質

工業的な機能性触媒への応用 株式会社 丸和栄養食品／大阪大学



- セルロースの分解酵素:
植物細胞の細胞壁や繊維の主成分であるセルロースを、触媒反応により分解する酵素の糖鎖を含む詳細な構造を解明

○食物を原料としないバイオエネルギーの生産に利用可能な機能性触媒としての応用が可能に
新たな機能性触媒の開発を行い3~5年程度での実用化を目指す。

- 化学処理を行なわず、環境負荷の少ない機能性触媒を利用した反応系でのバイオエネルギーの生産法の開発が可能。
- タンパク質工学の技術を適用し、より高効率で安定な機能性触媒の開発に着手。



応募概要・お申込み方法

応募資格

日本国内の民間企業、企業と連携のある大学・公的研究機関に所属していること。

JAXAとの間で利用契約(受託契約)の締結が可能であること。

本プロジェクトは、上記2つを満たす方であればどなたでもご応募いただけます。ぜひご検討ください。

トライアルユース制度

有償利用制度のご利用前に、宇宙実験を無償にて試用的に利用できます。

原則として、1法人につき1回のみ利用可能です。

宇宙実験の実施に加え、結晶化条件検討、回折データ測定等のサポートを受けることができます。

応募の単位

申込は1法人につき原則1回限りです。

申込の最小単位は1タンパク質試料・1条件(キャビラリ2本)です。

1提案者あたり最大2タンパク質試料、各6条件(最大24キャビラリー分)まで搭載可能です。

実験結果の速報と事後評価

宇宙実験終了後に「トライアルユース結果報告レポート様式」を送付いたします。

回折データ引渡し日から2か月以内に本レポートに必要事項を記載のうえ提出していただきます。

有償利用制度

宇宙実験を有償でご利用いただけます。

宇宙実験の実施に加え、結晶化条件検討、回折データ測定等のサポートを受けることができます。

標準利用料

(1)地上条件検討あり：1試料あたり170万円

(2)宇宙実験のみ：1試料あたり90万円

応募の単位

申込の最小単位は1タンパク質試料・1条件(キャビラリ2本)です。

1提案者あたり最大4タンパク質試料、各6条件(最大48キャビラリー分)まで搭載可能です。

応募の内容

「きぼう」への搭載を提案する試料について、いくつかの書類を提出していただきます。

外部委員から構成される機構内部委員会がそれをもとに試料の安全性、実施の妥当性についての評価を行います。

評価の決定後、機構内部委員会にて実施可否を判断し「きぼう」への搭載候補として選定します。

※有償利用制度は機構内部委員会の決定のみで「きぼう」への搭載候補として選定します。

提出書類

ご応募の際に提出して頂く書類は以下の4種類です。

①トライアルユース制度申込書 もしくは 有償利用制度申込書

②テーマ提案書

③申し込みデータシート

④タンパク質試料の安全性に関する保証書

各書類は、申込み前に事前に指定の電子ファイル形式でお送りください。

機構側で内容確認後、署名・押印いただき、郵送にてお送りください。

公表情報

宇宙実験への搭載が最終決定した際には、提案法人名、簡易的実験目的(創薬、産業用酵素の解析、等)を、JAXA HP等にて公表させていただきます。

また、成果等を公開いただける場合は共同研究による実施も可能ですので、応募時にお知らせください。

タンパク質等を構成する原子の位置情報等の帰属

本研究で取得した回折データから得られたタンパク質等を構成する原子の位置情報を含むタンパク質の構造解析の結果は、提案者に帰属します。

応募方法

前項の提出書類を電子メールに添付の上、下記メールアドレス宛に送付してください。

E-mail: CRYSTAL@jaxa.jp

JAXA宇宙環境利用センター JAXA PCG募集担当 宛

応募締切日時

常時受け付けています。なお、実験機会ごとに締切は設定しています。

ただし、社内手続き等で締切に間に合わない場合はご相談下さい。

緊急応募テーマについては別途対応いたします。

選定結果の連絡

応募から約3週間程度を目処にすべての応募者に電子メールにて選定結果をお知らせします。



応募概要・お申込み方法

受託契約

選定された場合、提案者(法人)とJAXAとの間で約款形式の利用契約(受託契約)を締結させていただきます。利用契約締結の際には、国際宇宙ステーションでの実験に関する特約事項についてご了承いただく必要があります。なお、募集要項と利用契約書の記述に齟齬がある場合は、利用契約書の記述が優先となります。

データシート記載情報の開示

データシート記載情報の開示について

実験実施の手続き上、お預かりした情報の一部を下記機関に対して限定的に開示します。予めご了承ください。それ以外の情報については、提案者の了承を得ないで開示することはありません。

※必要に応じて、秘密保持契約を別途締結することも可能です。

- ・タンパク質の略称
- ・タンパク質の生物学的機能
- ・タンパク質の由来、発現系等
- ・タンパク質の安全性の提案者による保証
- ・タンパク質の特記すべき特徴

宇宙実験搭載の安全性判断のため米国NASAおよびロシアの宇宙機関へ提出します。なおタンパク質の略称については、他との識別が可能な程度の略号でも結構です。

・結晶化溶液の組成の概略

安全性判断のため米国NASAおよびロシアの宇宙機関へ提出します。またタンパク質をロシアに輸出する際、外為法・輸出貿易管理令の定めに従い、戦略物資に該当しないことの証明に使用します。

・輸出に当たって戦略物資に該当しないことの提案者による証明

タンパク質をロシアに輸出する際、外為法・輸出貿易管理令の定めに従い、戦略物資に該当しないことの証明に使用します。



提出資料について

① テーマ提案書

提案のタンパク質に係る基本的な事項を記載した書類です。

提案者の所属が大学・公的研究機関である場合は、研究体制の項目に企業側の共同研究者名等を記載するなどして、企業との連携が明確になるようにして下さい。

1つのテーマ提案に関連するものであれば、複数種類のタンパク質であっても1つのファイルに記入してください。

(例) ネイティブタンパク質、変異体タンパク質1、変異体タンパク質2、その他テーマに関連する異種のタンパク質など

同一のタンパク質に対して、多種類のリガンド化合物を結合させた複合体結晶の生成を想定する場合は、1種類として記載してください。

② 申込データシート

提案タンパク質に関する安全性の確認、輸出時の戦略物資非該当証明、ならびに宇宙実験に向けた結晶化条件検討実験に利用するための書類です。申込データシートの記入に関しては、以下の点にご注意ください。

専用のシートを用い、記入例を参考の上、提案タンパク質に関わる事項、データ等を記入してください。

提案タンパク質名が表示されているシートに、対応するタンパク質の調製状況、および結晶化状況についての詳細をご記入ください。

結晶の写真を貼付ください。

同一タンパク質試料の場合、結晶化条件は最良の条件を1つだけ記載してください。

複数の結晶化条件や複数の阻害剤との複合体結晶の生成を希望する場合には、申込データシート最下段の「その他」欄にその旨をご記入ください。

受付後の試薬の追加はできません。

申込後に溶液組成を変更する可能性がある場合には、申込時点で想定される試薬すべてについて記載してください。

以下の4点の安全性を確認の上、「タンパク質試料の安全性の確認」欄にご記入ください。

宇宙実験には毒性・病原性のある試料は搭載できません。

- I タンパク質の安全性: 当該タンパク質にはヒトへの毒性または病原性はない
- II 原材料の安全性: 当該タンパク質の原材料とした生物種はヒトへの毒性または病原性を獲得する可能性がない
- III 製造工程の安全性: 当該タンパク質の製造には毒性または病原性微生物の混入のない製造工程が保証されている
- IV そのための品質の要件: 当該タンパク質は、以上の安全性の保証、原材料の安全性の保証、製造工程の安全性の保証、またその後の最低限の品質検査(電気泳動で単一ピークを呈すること等)により、毒性または病原性物質の混入がないことが確認されている

「WHO安全アセスメントレベル」はP30-31の
「実験室バイオセイフティ指針抜粋(WHO第3版)」を参照の上、記入してください。

※詳細については以下のホームページを参照してください。

英語版: <http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf>

日本語版: http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety3_j.pdf

「外為法／輸出貿易管理令による戦略物資に該当の有無」欄は、以下のホームページで
「輸出貿易管理令別表第1 3の2(1)軍用細菌製剤の原料」を確認の上、ご記入ください。

<http://www.meti.go.jp/policy/anpo/law02.html>



テーマ提案書の記入例

※以下は第2期実験シリーズ第2回用の様式です。今後変更される可能性があります。

JAXA PCG 第2期 #2 テーマ提案書民間利用/トライアルユース				
区分	項目	記入欄		
基本情報	テーマ名	○○の構造決定		
	提案日	平成25年9月1日		
	研究代表者の自署/押印	蛋白 七郎 		
提案記号・番号				
研究代表者所属機関等	所属機関	○○製薬株式会社		
	研究代表者/役職	蛋白 七郎/医薬研究センター センター長		
	研究代表者氏名/所属機関 英文表記	Shichiro Tanpaku /Director of the Laboratory for medical chemistry research center		
	電話番号	03-1111-2234	連絡先住所	111-2234 東京都千代田区千代田1-1
	E-mailアドレス	tanpaku@00pharm.co.jp		
提案タンパク質	選択型簡易目的	創薬ターゲット		
	提案タンパク質略称1 (英数文字15字以内)	TAA1		
	提案タンパク質略称2 (英数文字15字以内)	TAA2		
	公表可能な、タンパク質の機能もしくは名称等	hydrolase		
提案内容	達成目標	地上で2.3Å分解能の構造を1.0Åまで向上することを目標とする		
	実験目的	地上で2.3Å程度の構造しか得られていないタンパク質が、 宇宙実験を行うことで1.0Å程度の良い分解能で構造決定できるかどうかを判断したい。		
研究体制	共同研究者1/役職	宇宙 七子/部長		
	共同研究者1 所属機関	○○製薬株式会社		
	共同研究者1 分担概要	全体の統括		
	共同研究者2/役職	航空 七太/研究員		
	共同研究者2 所属機関	○○製薬株式会社		
	共同研究者2 分担概要	タンパク質の発現、精製		
	共同研究者3/役職	研究 七美/研究員		
	共同研究者3 所属機関	○○製薬株式会社		
	共同研究者3 分担概要	結晶化実験		
	共同研究者4/役職	開発 七夫/研究員		
	共同研究者4 所属機関	○○製薬株式会社		
	共同研究者4 分担概要	構造解析		

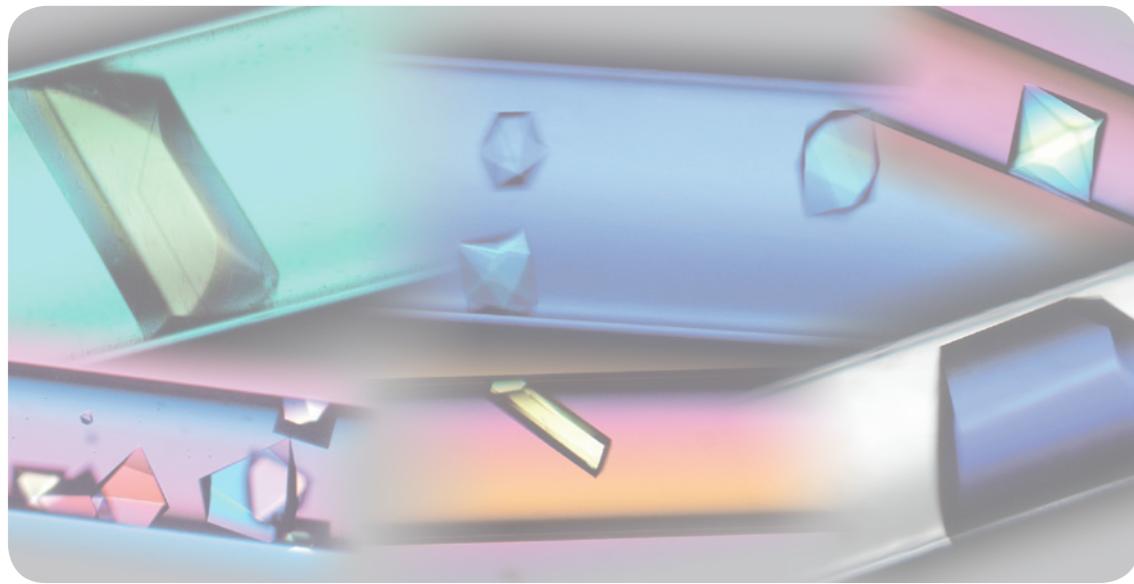
宇宙実験に期待する実験結果・達成目標	
クラスター化の抑制を期待	
実験目的	
創薬ターゲットのタンパク質について、クラスター化を抑制、 高分解能で構造決定することで、宇宙実験の有用性を確認することを目的とする。	



申込データシートの記入例

※以下は第2期実験シリーズ第2回用の様式です。今後変更される可能性があります。

JAXA PCG 第2期 #2 申込データシート			
区分	項目	記入欄	
タンパク質名称	TAA1		
コース/型	民間利用/トライアルユース	受付番号	
申込責任者	所属機関	○○製薬株式会社	
	申込責任者/役職	蛋白 七郎/医薬研究センター センター長	
	申込責任者氏名英文表記	Shichiro Tanpaku	
	E-mailアドレス	tanpaku@00pharm.co.jp	
担当者	実験担当者(コンタクトポイント) /役職	研究 七美/研究員	
	実験担当者氏名英文表記	Nanami Kenkyu	
	連絡先住所(郵便番号も記入)	111-2234 東京都千代田区千代田1-1	
	連絡先電話番号/ファックス番号	03-1111-2235/03-1111-2236	
タンパク質の物理化学的情報	E-mailアドレス	kenkyu@00pharm.co.jp	
	分子量(計算値)	25234	
	分子量(実測値、サブユニット等の泳動位置も含む)	25000	
	等電点(計算値、実測値の別も記入)	6.5	
タンパク質基本情報	タンパク質の性質	水溶性タンパク質	
		タンパク質の局在	細胞外
タンパク質の安全性情報	タンパク質試料の安全性の確認	Yes	
	WHO安全アセスメントレベル	Risk Group 1 (no or low individual and community risk)	
	外為法/輸出貿易管理令による戦略物資非該当の確認	非該当	
	生物学的機能(英文)	hydrolase	
	天然タンパク/組換タンパクの別	native protein	
	対象タンパク質の由来となる生物種	Aspergillus oryzae	
		生物種名	Aspergillus oryzae
	タンパク質試料の生成系	株名	
		メーカー	TT Science
		ATCCナンバー	16507
タンパク質溶液搭載想定の最大濃度	100.00	mg/ml	
毒性化合物	なし		

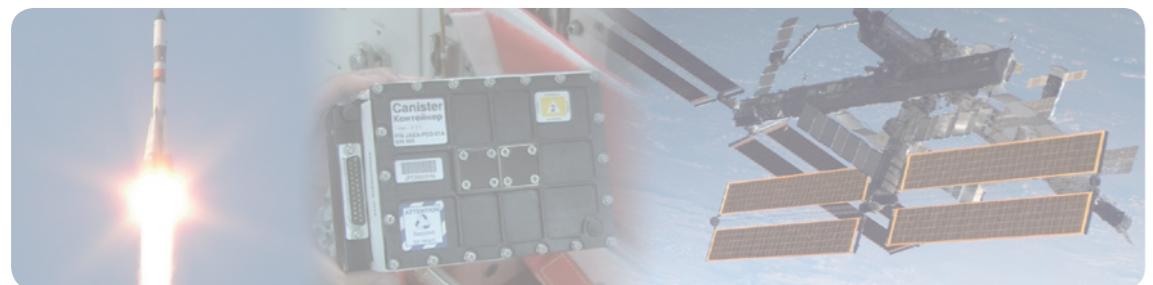


(1) タンパク質試料(溶液)の調製状況について					
蛋白質濃度	75	(mg/ml)	pH(数値)	7	濃度(数値)
組成1	Tris-HCl			50	(mM)
組成2	Calcium chloride			2	(mM)
組成3	Sodium azide			0.04	(%)
組成4					
組成5					
組成6					
組成7					
組成8					
組成9					
組成10					
タンパク質調製	タンパク試料調製実施者/役職	航空 七太/研究員			
	タンパク質調製量	数~10mg			
	調製頻度	数ヶ月に1回			
	調製の再現性	あまり高くない(30~80%)			
	品質の確認方法	SDS-PAGE			
	再現性の状況	ばらつきはない			
	長期間の保存性	可能			
	長期保存方法	粉末を凍結			
	保存試料での結晶化	可能。結晶品質への影響なし			
	保存試料結晶化の実験操作	必要 遠心分離			
(2) 結晶生成状況について					
リザーバ溶液組成、濃度、pH		pH(数値)	6.5	濃度(数値)	濃度単位
組成1	PEG 8000			40	(%)
組成2	Sodium acetate			100	(mM)
組成3	Calcium chloride			2	(mM)
組成4					
組成5					
組成6					
組成7					
組成8					
組成9					
組成10					
結晶化実験操作	結晶化関連試薬の入手状況	入手困難なものはない			
	結晶化方法	ハンギングドロップ			
	具体的な実験操作	タンパク質溶液とリザーバ溶液を1:1で混合してドロップを作成			
	シーディングの有無	なし			
	特殊操作、結晶化に関する特記事項	特殊操作はありません			
結晶成長	結晶化温度	20	結晶写真		
	ロットごとの再現性	低い			
	同一ロット試料の再現性	高い			
生成結晶の安定性	結晶が生成し始めるまでの日数	1週間~2週間			
	結晶成長の速さ	2週間以上			
	結晶の大きさ(mm)	0.05*0.05*0.05			
複合体結晶	生成結晶の経時安定性	安定			
	生成結晶の温度安定性	ある			
複合体結晶	複合体結晶調製方法	共結晶			
	複合体結晶実験操作	結晶化実験開始時にタンパク質溶液に化合物粉末を混合			



申込データシートの記入例

(3) 回折実験状況		
過去の文献またはPDB登録 (もしある場合)	結晶化方法/容器	ハンギングドロップ
	回折実験状況分解能 (Å)	2.0
受付時以前利用者での結晶化状況	結晶化方法/容器	ハンギングドロップ
	評価分類	6.既に構造解析済
	結晶寸法(mm)	0.05*0.05*0.01
	性状	柱状単結晶
	回折実験状況	取得回折データで構造得られず
	ビームライン/施設名	SPring-8 BL41XU
	回折実験実施取得日	2012年8月8日
	回折実験実施温度(K)	100
	目視で確認した最高分解能(Å)	1.9
	データセットの統計値から判断した最高分解能(Å)	2.0
	構造解析で利用した最外殻回折分解能(Å)	2.0
	空間群	P1
	格子定数	95.0, 98.5, 120.3, 89.3, 90.5, 92.2
	Mosaicity	0.13
	Rmerge	0.23
	Completeness	96.1
	I/σ(I)	8.8
希望実験条件	結晶の多型について	P21の結晶が得られる場合があるが構造解析には至っていない。
	結晶化試薬	PEG 8000濃度を振ったいくつかの結晶化条件（3条件くらい）での結晶化を希望します。 また、本酵素の阻害剤化合物(2種類)との複合体結晶作成を希望します。
その他、特記事項、留意点	本酵素は、同一ロットでは性状が安定しているが、ロット間の違いが大きい。 一度の精製で得られるタンパク質量が少ないため、質の良いロットを得るために、複数回の精製を行い、ロット間の差をなくすようにする必要がある。	



保証書の記入例

タンパク質試料の安全性に関する保証書

タンパク質名称:

TAA1

1. 上記タンパク質（以下当該タンパク質という）は、以下の点で安全性が保証されています。

- 1) タンパク質の安全性： 当該タンパク質にはヒトへの毒性または病原性はない
- 2) 原材料の安全性： 当該タンパク質の原材料とした生物種はヒトへの毒性または病原性を獲得する可能性がない
- 3) 製造工程の安全性： 当該タンパク質の製造には毒性または病原性微生物の混入のない製造工程が保証されている
- 4) そのための品質の要件： 当該タンパク質は、以上の安全性の保証、原材料の安全性の保証、製造工程の安全性の保証、またその後の最低限の品質検査（電気泳動で単一ピークを呈すること等）により、毒性または病原性物質の混入がないことが確認されている

2. 当該タンパク質は、すべて実験用のものであり、以下に示す輸出貿易管理令、別表第1の1項（14）および別表1の3項（1）および別表1の3の2項（1）に該当するものではありません。

日付 平成25年9月1日

所属機関 ○○製薬株式会社

研究代表者/役職 蛋白 七郎/医薬研究センター センター長

署名 蛋白 七郎

印

輸出貿易管理令、別表第1等は<http://www.meti.go.jp/policy/anpo/index.html>を参照ください。（最終改正は平成23年12月26日公布、平成24年2月1日施行）。以下に、平成25年8月8日時点の抜粋を示します。

1) 輸出貿易管理令 別表第1の1項（14）

軍用の化学製剤の探知若しくは識別のための生体高分子（＊1）若しくはその製造に用いる細胞株又は軍用の化学製剤の浄化若しくは分解のための生体触媒（＊2）若しくはその製造に必要な遺伝情報を含んでいるベクター（＊3）、ウイルス若しくは細胞株
注：＊1 生体高分子：以下のいずれかに該当するものをいう。
イ、酵素 ロ、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗イディオタイプ抗体 ハ、レセプター
＊2 生体触媒：生体化合物のうち特定の物質に結合し、分解を促進するものであって、人為的な選択又は遺伝子操作を経て生産されたものをいう。
＊3 ベクター：遺伝物質を新細胞に組み込む媒介体をいう。

2) 輸出貿易管理令 別表第1の3項（1）

軍用の化学製剤の原料となる物質又は軍用の化学製剤と同等の毒性を有する物質若しくはその原料となる物質として経済産業省令で定めるもの
注：詳細は上記ホームページを参照ください

3) 輸出貿易管理令 別表第1の3の2項（1）

軍用の細菌製剤の原料として用いられる生物、毒素若しくはそのサブユニット又は遺伝子であって経済産業省令で定められるもの（次のいずれかに該当するものとする）

第一号 ウィルス（ワクチンを除く。）であって、アフリカ馬疫ウイルス、アフリカ豚コレラウイルス、エボラウイルス、黄熱ウイルス、オーエスキーエ病ウイルス、オムスク出血熱ウイルス、オロポーテウイルス、ガナトリウイルス、キャサヌール森林病ウイルス、牛痘ウイルス、狂犬病ウイルス、クリミアコンゴ出血熱ウイルス、口蹄疫ウイルス、サビウイルス、サル痘ウイルス、小反芻獸疫ウイルス、シンゾンブレウイルス、水胞性口炎ウイルス、西部ウマ脳炎ウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、ソウルウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルス、チケングニヤウイルス、チャバレウイルス、跳躍病ウイルス、テッセン病ウイルス、テュコウイルス、デング熱ウイルス、痘瘡ウイルス、東部ウマ脳炎ウイルス、ドグラバーベルグレドウイルス、トリインフルエンザウイルス（H五又はH七のH抗原を有するものに限る。）、豚コレラウイルス、ニパウイルス、日本脳炎ウイルス、ニューカッスル病ウイルス、ハントーンウイルス、ブタエンテロウイルス九型、フニンウイルス、ブルータングウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、ヘンドラウイルス、ポテト・アンデアン・ラテント・チモウイルス、ポテト・スピンドル・チュバー・ウィロイド、ポツサンウイルス、マチュボウイルス、マールブルグウイルス、マレー渓谷脳炎ウイルス、ヤギ痘ウイルス、羊痘ウイルス、ラグナネグラウイルス、ラッサ熱ウイルス、ランビスキン病ウイルス、リフトバレー熱ウイルス、リンバ球性脈絡膜膜炎ウイルス、ルヨウイルス又はロシオウイルス

第二号 細菌（ワクチンを除く。）であって、ウシ流産菌、オウム病クラミジア、ガス壊 痢菌、Q熱リケッチャ、牛肺疫菌（小コロニー型）、コレラ菌、塹壕熱リケッチャ、志賀赤痢菌、炭疽菌、チフス菌、腸管出血性大腸菌血清型O157、発疹チフスリケッチャ、鼻疽菌、ブタ流産菌、ペスト菌、ボツリヌス菌、マルタ熱菌、山羊伝染性胸膜肺炎菌F38株、野兎病菌、人類疽菌又はロッキー山紅斑熱リケッチャ

第三号 毒素（免疫毒素を除く。）であって、アフラトキシン、アブリン、ウェルシュ菌毒素、HT-2トキシン、黄色ブドウ球菌毒素、コノトキシン、コレラ毒素、赤痢菌毒素、テアセトキシシルペノール毒素、T-2トキシン、テトロドトキシン、ビスマルアルバムレクチン、ベロ毒素及び志賀毒素リボゾーム不活化蛋白質、ボツリヌス毒素、ボルケンシン、ミクロシスチン又はモテシン

第四号 前号に該当するもののサブユニット

第五号 細菌又は菌類であって、クラビバクター・ミシガネンシス亜種セベニカス、コクシジョイデス・イミチス、コクシジョイデス・ボサダシ、コクリオボルス・ミヤベアヌス、コレトリクム・コフェアヌム・バラエティ・ビルランス、ザントモナス・アルビリネアンス、ザントモナス・オリゼ・バラエティ・オリゼ、ザントモナス・キャンベストリス・バラエティ・シトリ、ピリキュラリア・オリゼ、ピリキュラリア・グリセア、ブクシニア・グラミニス、ブクシニア・ストリイフォルミス、ミクロシクルス・ウレイ又はラルストニア・ソラナセラム・レース2及び3

第六号 第一号、第二号若しくは前号に該当するものの核酸の塩基配列のうち病原性を発現させるもの又は第三号若しくは第四号に該当するものを產生させる核酸の塩基配列を有する遺伝子（染色体、ゲノム、プラスミド、トランスポゾン及びベクターを含む。）

第七号 第一号、第二号若しくは第五号に該当するものの核酸の塩基配列のうち病原性を発現させるもの又は第三号若しくは第四号に該当するものを產生させる核酸の塩基配列を有する遺伝子（染色体、ゲノム、プラスミド、トランスポゾン及びベクターを含む。）



実験の準備

選定後から実験実施までの流れ

提案タンパク質が搭載候補に選定されてから実験実施までの流れは次のようにになります。

搭載する溶液の準備

搭載候補に選定されたタンパク質について、タンパク質溶液・結晶化溶液等をご用意いただきます。

宇宙実験に向けた条件検討

結晶化条件について、JAXAが主体となり検討を行います。

搭載判断

最終的な搭載の可否および搭載する数量等を決定します。

宇宙実験の実施

搭載が決定した数量分の溶液を送付いただき、実験を実施します。

JAXAから提案者への技術支援

宇宙実験を円滑に実施するため、JAXAから提案者へ技術支援を行います。初めて参加される場合でもJAXAができる限りサポートしますので、どうぞご安心ください。不明な点などがあればいつでもご相談ください。

実験実施前

結晶生成の再現性確認

提案者と同等の方法でJAXAが結晶生成の再現性およびタンパク質試料の性状について確認します。

タンパク質試料の精製

提案者と調整の上、必要に応じてタンパク質試料の精製をJAXAで行います。

経時変化の検討

必要に応じてタンパク質試料の経時変化を検討します。

予測技術実験

一部試料については微小重力効果の予測技術実験を行います。

ゲルチューブ法による結晶化実験

ゲルチューブ法による結晶化実験を実施し、宇宙実験で行うカウンターディフュージョン法に適した結晶化条件を絞り込みます。

結晶の品質確認

条件検討の過程で生成した結晶について品質確認を行います。

実験実施後

凍結保護

宇宙実験帰還後の結晶を凍結保護します。

結晶の凍結保存および経時変化チェック

地上実験で生成した結晶を定期的に凍結保存し、結晶品質の経時変化を確認します。

宇宙実験に向けた結晶化条件検討

宇宙実験という限られた機会を活かして実験成果を挙げるため、結晶生成条件を十分に検討することがとても重要です。

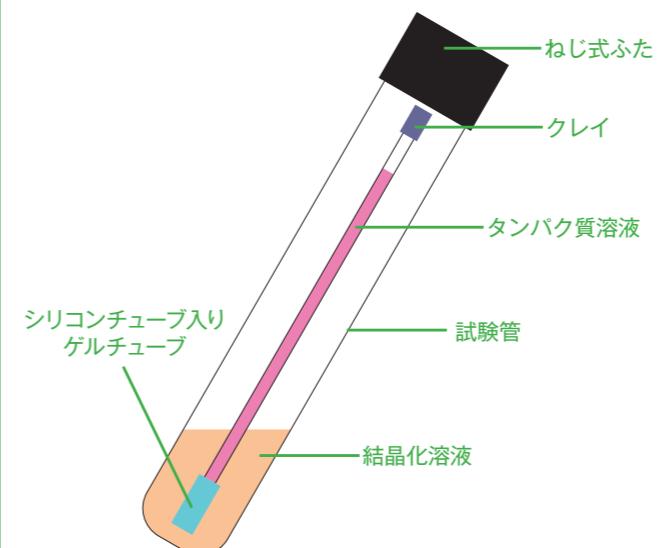
宇宙実験に向けた結晶化条件検討はJAXAが主体となり実施します。

提案者については、それに係る試料調製および結晶化に関する情報の提供をお願いすることがあります。

条件検討の方法

条件検討の地上実験は、ゲル充填済みのシリコンチューブを用いた「ゲルチューブ法」で実施します。

ゲルチューブ法



結晶化条件の範囲

結晶化条件の検討は、提出した申込データシートの範囲内で行う必要があります。

特に、新たな試薬の追加はできません。

安全性判断等の承認手続きに問題が生じ、宇宙実験を実施できなくなる可能性があります。

検討状況の確認

結晶化条件の検討状況を踏まえて提案者と協議を行い、宇宙実験への搭載に向けて、JAXA外部委員会に諮るかどうかを決定します。



実験準備に関する注意事項

溶液の送付 ① 搭載決定前

搭載候補に選定された後、タンパク質試料、結晶化溶液、ならびにバッファ溶液を送付いただきます。送付いただいた試料を用いて搭載判断を行いますので、タンパク質試料ならびに結晶化溶液は、できる限り事前に結晶生成が確認できている試料と同じロットのものをお送りください。

標準的に必要な溶液量

タンパク質溶液	50μl以上
結晶化溶液	10ml以上
バッファ溶液	10ml以上

凍結品としての送付が可能な場合には、50μlずつ計3本程度お送りいただければ、条件検討から宇宙実験まで、同一ロットで実験をすることが可能です。ご検討ください。

溶液の送付 ② 搭載決定後

搭載決定後に、改めて宇宙実験および地上対照実験(バックアップを兼ねる)に必要な溶液を送付いただきます。必要な溶液量については、個別に調整させていただきます。

なお宇宙実験には少なくとも以下の溶液量が必要です。

宇宙実験に最小限必要な溶液量

タンパク質溶液	50μl以上
結晶化溶液	7ml以上
ゲル浸漬溶液	10ml以上

※ゲルチューブの浸漬をお願いする場合もあります。

また、結晶の取出しと凍結保護作業用に、以下の溶液の提出をお願いしています。

クライオプロテクタントを添加した結晶化溶液	数ml
クライオプロテクタントを添加したバッファ溶液	数ml

結晶生成の再現性情報の提供

結晶生成の再現性情報を提供してください。

宇宙実験の機会および1回の搭載量は限られたものですので、有用な成果を得るために、結晶生成の再現性についての正確な情報が重要です。

試料・溶液類の提出量および提出期限

試料・溶液類の提出については、必要な量および提出期限を守っていただくようお願いします。

精密な条件検討を行うためでご協力ください。

提出量が少なかつたり、提出時期が遅くなったりすると、精密な条件検討が実施できなくなる可能性があります。なおタンパク質試料の純度、安定性、精製ロットごとの結晶性の違い等については提案者側で管理してください。

事前の地上実験

事前に地上実験を行い、結晶生成条件を十分に検討してください。

提出いただいた結晶化条件を基にして、JAXAで宇宙実験のための条件検討を行います。

その際、大幅な溶液条件の変更を行うことはできませんので、できる限り結晶生成条件を絞り込んでおいてください。必要に応じてJAXAによる結晶化条件の再検討を実施します。

結晶生成温度

宇宙実験の温度環境は20±2°C(打上げ／回収／地上輸送時は20±5°C)です。

この温度での結晶生成が見込めない試料は、現在のところ受け付けることができません。ただし他の温度環境についてご要望がある場合には、将来に向けてご一報ください。

タンパク質安定性

宇宙実験では試料の充填から回折実験まで2~4.5か月かかります。

このため、長期にわたり20°C近傍でタンパク質試料が変性しないことが求められます。タンパク質の安定性に不安がある場合は、お知らせください。

カビ等の発生防止

溶液の調製に際しては、防カビのため若干の防腐剤の添加をお願いします。

なお防腐剤については溶液組成に記入する必要はありません。

宇宙実験の中止および実施スケジュール変更の可能性

輸送機の打ち上げ時期の遅延等、諸般の事情により、やむを得ず宇宙実験が中止またはスケジュールが変更されることがあります。あらかじめご了承ください。

お問い合わせ先

実験の準備に関するご質問・お問い合わせはメールでお気軽に

E-mail: CRYSTAL@jaxa.jp

JAXA宇宙環境利用センター JAXA PCG募集担当 宛



実施内容と実験装置について

宇宙実験の概要

参考:JAXA PCG第2期 第3回実験

打上げ	打上げ予定日	2015年8月上旬
	打上げ射場	カザフスタン バイコヌール宇宙基地
	打上げ宇宙船	プログレス補給船
結晶生成実験	結晶化場所	国際宇宙ステーション「きぼう」日本実験棟 タンパク質結晶生成実験装置
	実験期間	約5週間
	結晶化容器: JCB-SGT	高品質タンパク質結晶生成用セルユニット 2式 [144試料(1試料あたりキャビラリー2本の場合)]
	結晶化方法	カウンターディフュージョン法
回収	帰還予定日	2015年9月中旬
	帰還地点	カザフスタン中部
	帰還宇宙船	ソユーズ宇宙船

宇宙実験と地上対照実験

宇宙実験用と地上対照実験用を1セットとして実験を行います。

宇宙実験用の容器にトラブルが発生した場合は、地上対照実験用の容器を宇宙実験に使います。

回折データの引き渡し

宇宙実験から帰還した結晶は、JAXAが日本に輸送します。
 外観検査、光学観察等を行った上で、結晶生成状況をご連絡します。
 回折データの取得はJAXAが主体となり実施しますが、
 提案者による回折実験を希望される場合は、事前にご相談ください。



実験装置の紹介

この宇宙実験では、カウンターディフュージョン法を用いてタンパク質結晶生成を行います。結晶を生成する容器やその環境をコントロールする装置には先進技術が用いられ、宇宙での安定的な実験を可能にしています。

タンパク質結晶生成実験装置「PCRF*」

最大144種類のタンパク質を搭載でき、一度にさまざまな結晶の生成実験を行うことができる先進の装置です。結晶生成中の庫内温度が約20°Cとなるように制御されています。

※ Protein Crystallization Research Facility



セルユニット

PCRF内にセットされるセルユニットです。各ユニットの中に結晶化容器を最大で12個搭載して使用します。ユニットごとに温度をコントロールすることができます。庫内の温度はリアルタイムで測定されており、地上で確認することができるだけでなく、打ち上げから回収までの温度がデータとして記録されます。



結晶化容器「JCB-SGT*」

標準的に使用する結晶化容器です。PET製シートでできた細長い筒状の袋で、それぞれ個別に結晶化条件を設定することができます。それぞれの袋にゲルチューブを装着したキャビラリーを2本ずつ装填します。シンプルな構造・軽量・高密度という特徴があり、宇宙実験に適しています。

JCB-SGTへの溶液の充填は地上で行います。結晶の生成が国際宇宙ステーション到着後に始まるよう、結晶化溶液やタンパク質溶液の濃度、ゲルチューブの長さを調整します。

※ JAXA Crystallization Box - Sealbag Gel Tube





品質情報の取り扱い



情報の取り扱いについて

結晶品質情報の提供

以下の情報は、今後の宇宙実験に必要な基礎データとして利用させていただきます。
これらの情報は提案者の了承なしに公開することはありません。

- ・ Full sphere resolution range, R merge value, R symm value, completeness(%), I/sigma(I)
- ・ Highest sphere resolution range, R merge value, R symm value, completeness (%), I/sigma(I)
- ・ Mosaicity

この際、宇宙実験で生成された結晶と地上対照実験で生成された結晶との比較が明確にできるよう、
できる限り同一のX線回折実験条件での測定・解析をお願いします。

結晶品質情報の取り扱い

今後の宇宙実験に必要な基礎データとして、
以下の情報も合わせて蓄積させていただきます。

- ① タンパク質の分子量
- ② 地上での結晶化条件
- ③ ②の条件で結晶化を行った際の結晶生成状況
- ④ 宇宙実験に向けた結晶化条件検討結果、地上での結晶生成時間経過、光学観察像、結晶化状況
- ⑤ 宇宙実験での結晶化状況、光学観察像
- ⑥ 提案試料の宇宙生成結晶に対する微小重力効果についての所見

※④⑤の情報はJAXAから提案者にご提供します。

タンパク質名や提案者が特定されることはありません。

これらのデータの一部もしくは統計値を学会、展示会、他の宇宙機関との情報交換等で発表する場合がございます。
その点はあらかじめご承知ください。

お問い合わせ先

本プロジェクトに関するご質問・お問い合わせはメールでお気軽に

E-mail: CRYSTAL@jaxa.jp

JAXA宇宙環境利用センター JAXA PCG募集担当宛

提出時期	源泉	情報項目	公開非公開(*1)		公開時期
			トライアルユース制度	有償利用制度	
提案受付時	提案書	提案機関名(*2)	公開	公開	搭載決定時
		選択型簡易目的	公開	公開	搭載決定時
	申込 データシート	タンパク質基本情報(*3)	限定公開(*4)	限定公開(*4)	宇宙実験終了から6カ月後
		タンパク質安全性情報	非公開	非公開	
		結晶化関連溶液情報	非公開	非公開	
	—	宇宙実験前地上実験成果(*5)	限定公開(*4)	限定公開(*4)	宇宙実験終了から6カ月後
		結晶化・回折実験状況	非公開	非公開	
	—	地上実験を含む宇宙実験成果(*5)	限定公開(*4)	限定公開(*4)	宇宙実験終了から6カ月後

(*1)公開とは不特定多数の人が閲覧できる状態を指します。非公開とはJAXA、支援業者、タンパク質機構内部委員だけが閲覧できる状態を指します。ただし例外として、安全性判断に係る情報については、米国NASAおよびロシア宇宙局が上記に加わります。なお情報を公開する場合でも、対象タンパク質や提案者を特定できるような情報の場合には、提案者の了承を得ずに公開することはありません。

(*2)提案者および共同研究者の所属機関名称(企業名、大学名、公的研究機関名)を指します。

(*3)水溶性か膜タンパク質か。局在は細胞内か細胞外か。由来はヒトか、バクテリアか、ウイルスか。その他、等電点、分子量等の基本的な情報

(*4)限定公開とは、統計データとしての公開、または提案者、タンパク質名を特定できない状態として公開することを指します。統計データの具体的な例としては、地上よりも分解能が上がった試料を実験機会毎に集計する場合に、数に含めて計算するということを指します。

(*5)Full sphere とhighest sphere のresolution range, R merge value, R symm value, completeness(%), I/sigma(I)およびMosaicity





実験室バイオセイフティ指針抜粋

表1 感染性微生物のリスク群分類

リスク群1 (個体および地域社会へのリスクは無い、ないし低い)	
ヒトや動物に疾患を起す可能性の無い微生物。	
リスク群2 (個体へのリスクが中等度、地域社会へのリスクは低い)	
ヒトや動物に疾患を起す可能性はあるが実験室職員、地域社会、家畜、環境にとって重大な災害となる可能性のない病原体。実験室での曝露は、重篤な感染を起す可能性はあるが、有効な治療法や予防法が利用でき、感染が拡散するリスクは限られる。	
リスク群3 (個体へのリスクが高い、地域社会へのリスクは低い)	
通常、ヒトや動物に重篤な疾患を起すが、通常の条件下では感染は個体から他の個体への拡散は起こらない病原体。有効な治療法や予防法が利用できる。	
リスク群4 (個体および地域社会へのリスクが高い)	
通常、ヒトや動物に重篤な疾患を起し、感染した個体から他の個体に、直接または間接的に容易に伝播され得る病原体。通常、有効な治療法や予防法が利用できない。	

表2 リスク群分類と、BSレベル分類の関連、主な作業方式、機器

	BSレベル	実験室の型	作業方式	安全機器
リスク群1	基本-BS レベル1	基本教育、研究	GMT	特に無し;開放型作業台
リスク群2	基本-BS レベル1	一般医療、診断検査、研究	GMT+ 保護衣、バイオハザード標識	開放型作業台+ エアロゾル発生の可能性ある場合はBSC
リスク群3	封じ込め-BS レベル3	特殊診断検査、研究	BS レベル2 + 特別な保護衣、入域の制限、一定気流方向	全操作をBSC/ ないし、その他の封じ込め機器を用いて行う
リスク群4	高度封じ込め実験室-BS レベル4	特殊病原体施設	BS レベル3 + 入口部はエアロック、出口にシャワー、特別な廃棄物	クラスIII BSC または陽圧スーツ+ クラスII BSC,(壁に固定した)両面オートクレーブ; 給排気は濾過

略語: BSC = 生物学的安全キャビネット ; GMT = 基準微生物実験技術(本指針第IV部参照)

表3 BSレベル別施設基準要約

	BSレベル 1	BSレベル 2	BSレベル 3	BSレベル 4
実験室の隔離 ^a	不要	不要	要	要
汚染除去時の実験室気密封鎖性能	不要	不要	要	要
換気	内側への気流 制御換気系 排気のHEPA濾過	不要 不要 不要	望ましい 要 要/不要 ^b	要 要 要
入口部二重ドア	不要	不要	要	要
エアロック	不要	不要	不要	要
エアロック+シャワー	不要	不要	不要	要
前室	不要	不要	要	—
前室+シャワー	不要	不要	要/不要 ^c	不要
排水処理	不要	不要	要/不要 ^c	要
クオートブリート	現場処理 実験室内 両面オートクレーブ	不要 不要 不要	望ましい 不要 望ましい	不要 望ましい 要
生物学的安全キャビネット	不要	望ましい	不要	要
職員安全モニタリング設備 ^d	不要	不要	望ましい	要

a: 一般交通より、環境的、機能的に隔離。

b: 排気系の位置による(第4章参照)。

c: 実験室内で取り扱われる病原体による。

d: 例、覗き窓、有線テレビ、2方向通信系。

