



大規模タンパク質結晶化システム



大学共同利用機関法人 高エネルギー加速器研究機構
物質構造科学研究所 構造生物学研究センター

タンパク質の結晶構造解析はタンパク質の発現、精製、結晶化、X線回折実験、データ処理という手順で行われているが、そのほとんどは人の手によるところが大きい。そのため膨大な数のタンパク質の構造解析を行うためには、それぞれの手順の自動化が必要不可欠である。そこで、構造生物学研究センターでは、1日に24万ウェルへの分注が可能な大規模タンパク質結晶化システムを開発した。本システムは大きく「分注部」と「保管・観察部」に分けられる。分注部はさらに結晶化プレート供給システム、沈殿剤分注器、タンパク質溶液分注器、ミキシング用分注器、シーラーで構成される。分注器では分注速度の向上と異物の混入防止のために、ディスポーザブルチップを用いている。保管・観察部は、それぞれ独立に温度設定が可能な複数のインキュベータと観察装置、それらの間でプレートを搬送するためのロボットで構成される。観察システムはあらかじめ決められたスケジュールに従って、自動的に結晶化プレートの各ウェルを撮影し、画像データとしてサーバーに保管する。画像の閲覧はウェブブラウザを用いて行うことができるため、研究者は世界中どこにいても、タンパク質結晶の成長の様子を観察することが可能である。

主な特徴

分注部		観察部	
結晶化方法	シッティングドロップ蒸気拡散法	撮影時間	プレート1枚あたり約80秒
分注方式	ディスポーザブルチップ	画素数	640×480 ピクセル(カラー)
分注速度	約 36 秒 (96ウェルプレート1枚) 1日あたり約 2,500 プレート相当	倍率	x1, x1.5, x6 の3段階 (チューブレンズの倍率)
分注量	1日あたり約 240,000 ドロップ相当 タンパク質溶液 0.5 μL以上 沈殿剤 0.5 μL以上	フィルタ	電動偏光フィルタ
1バッチ処理数	タンパク質 8 種類、沈殿剤 960種類 を同時にセット可能 (プレート数 80枚相当) (ドロップ数 7,680個相当)	照明	高輝度LEDアレイ
密閉方式	粘着式シール	画像サーバー	
		容量	1TB (RAID5)
		インキュベータ	
		保存枚数	1,100枚(システム全体)
		温度	16-25 ±0.5

装置外観



WEB経由での画像の閲覧



閲覧者は、ユーザ名、タンパク質名、分注の年月日等で目的のプレートの検索を行うことができる。プレート番号をクリックすることで、プレートの情報、取得画像のサムネイル表示ができ、ウェルの画像表示画面では、成長の様子を時系列で見ることができるようになっている。さらに、倍率、明るさ、偏光フィルタの角度を変えた画像を取得するための特別観察の設定を行うこともできる。

連絡先

〒305-0801 茨城県つくば市大穂1-1
大学共同利用機関法人 高エネルギー加速器研究機構
物質構造科学研究所 構造生物学研究センター
センター長・教授 若槻壮市
E-mail: soichi.wakatsuki@kek.jp

結晶化プレート供給システム



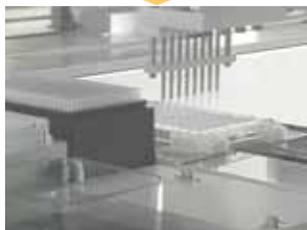
結晶化プレート供給システムは、80枚の結晶化プレートを保管し、分注器に1枚ずつ供給するための装置である。結晶化プレートは構造生物学研究センターで開発中のタンパク質結晶ループ装填システムでの取り扱いが容易なように特別に設計を行った。

分注器1 (沈殿剤)



分注器1は沈殿剤を分注するための装置である。沈殿剤は96ディープウェルプレートで供給され、分注器1は96本のディスペンザブルチップを用いて、一度に分注することが可能である。沈殿剤は回転ステージの上に最大10個(960種類)までセットすることができる。

分注器2 (タンパク質溶液)



分注器2はタンパク質溶液用の分注器である。1本のシリンジと8本のシリンジの分注ヘッドを有し、それぞれ独立に制御される。タンパク質溶液は1本のチューブで供給され、まず1本のシリンジを用いて中間プレートの8つのウェルに分注される。次に8本のシリンジを用いて、結晶化プレートに分注する。最小の分注量は0.5 μ Lである。

分注器3 (ミキシング用)



分注器3は、分注器1で分注された沈殿剤を吸い上げ、分注器2で分注されたタンパク質溶液と混ぜ合わせるための分注器である。最小の分注量は0.5 μ Lである。

シーラー



分注器3によってミキシングが終わった結晶化プレートは、シーラーの送られ、透明なシールによって密閉される。シールはロール状で供給され、連続して最大3,000枚のシールを貼ることができる。

インキュベータ



搬送ロボット



搬送ロボットは2つのアームを持っており、効率よく結晶化プレートの搬送を行うことができる。

観察システム



結晶化プレート内のドロップの様子をあらかじめ決められたスケジュールに従ってCCDカメラを用いて撮影し、画像ファイルとして画像サーバーに保存する。研究者はウェブブラウザを用いて画像の閲覧を行う。

分注が終わった結晶化プレートは、庫内の温度が一定に保たれたインキュベータで保管される。現在のシステムでは、1,100枚の結晶化プレートを保管することが可能である。