

## ネガティブ染色による単粒子解析

— 効率的なタンパクのスクリーニング —

関連製品：JEM-1400Flash

### 目的と背景

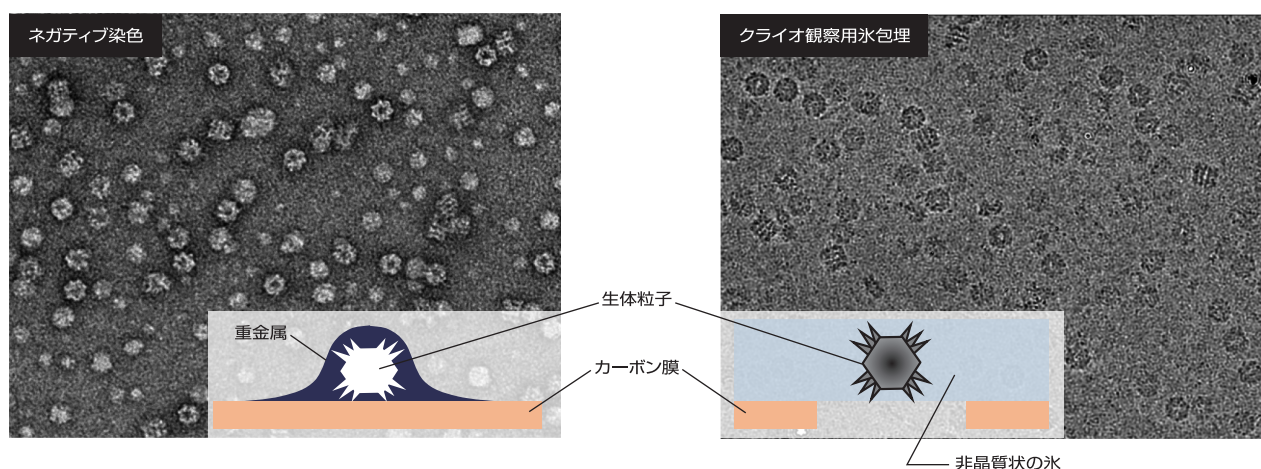
単粒子解析は、透過電子顕微鏡で取得した多数の粒子画像を用いて、コンピューター画像処理により粒子構造を求める解析手法です。X線結晶構造解析と比べ結晶化が不要であり、少量での解析が可能で有利です。近年、クライオ電子顕微鏡法の発展により、従来より高い空間分解能での単粒子解析が実現され、この分野への期待が高まっています。しかしながら、クライオ電子顕微鏡法での単粒子解析においては、氷包埋等の試料調製あるいは取得画像のコンピューター処理に要する技術的・時間的な要求度が高く、解析前段階での試料選別が重要となります。

ネガティブ染色法を用いた単粒子解析は、簡便な手法にもかかわらずタンパクの基礎構造情報が比較的短時間で得られ、クライオ電子顕微鏡法への試料選別に有用です。そのため、薬剤開発へのスピーディーなフィードバックが期待できます。

今回は、 $\beta$ -galactosidase およびGroELを例に、ネガティブ染色による単粒子解析をご紹介します。

### ネガティブ染色とは

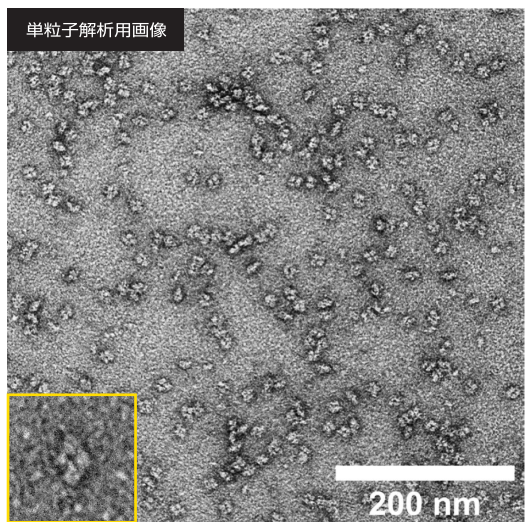
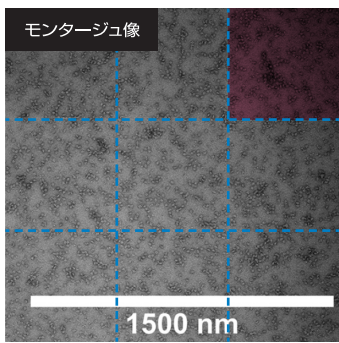
生体粒子を重金属水溶液でコーティングすることにより、粒子とのコントラスト差を生み、粒子を可視化する手法です。生体粒子を間接的に観察する点で直接観察するクライオ電子顕微鏡法と異なります。



### クライオ電子顕微鏡法との比較 ～ネガティブ染色で分かること～

	ネガティブ染色法 (Negative Stain)	クライオ電子顕微鏡法 (Cryo-EM)
タンパク濃度	約0.01 mg/mL	1~5 mg/mL
温度	Room temp.	LN <sub>2</sub> temp.
試料作製時間	5 min	30 min
観察時加速電圧	120 kV/CCD	200~300 kV/DDD
データ取得時間	1 hr	1~3 days
解析時間	4 hrs	1 week (~final reconstruction)
分解能	約 20 Å	1.5 Å~10 Å
分かること	分散状態 会合状態 粒子概形 タンパク間の相互作用部位	分子全体の原子構造モデル 物理化学レベルでの相互作用の仕方

ハイスループットな画像取得



JEM-1400Flash は、高感度 CMOS カメラにより、高フレームレート、低ノイズでスループット良く画像取得可能です。

単粒子解析例 (ネガティブ染色)

**β-galactosidase**

<構造モデル>

Top View

Side View

**GroEL**

<構造モデル>

Top View

Side View

ネガティブ染色を用いた単粒子解析では、粒子の概形・分散・会合状態等の基礎構造情報が得られるため、タンパクのスクリーニングが効率的に進められます。

受託分析のご案内

JEOL では、お客様サポートの一環として受託分析を行っています。お気軽に、下記お問い合わせ先までご連絡ください。  
TEL: 042-542-1106 FAX: 042-546-1044

日本電子 受託分析

本誌の記事内容は予告なしに変更することがあります。 Copyright(C)2016 JEOL Ltd. All Rights Reserved. このカタログに掲載した商品は、外国為替及び外国貿易法の安全輸出管理の規制品に該当する場合がありますので、輸出するとき、または日本国外に持ち出すときは当社までお問い合わせください。



本社・昭島製作所  
〒196-8558 東京都昭島市武蔵野3-1-2 TEL: (042) 543-1111(大代表) FAX: (042) 546-3353  
www.jeol.co.jp ISO 9001・ISO 14001 認証取得

- |   |   |   |
|---|---|---|
| <p>東京事務所 〒100-0004 東京都千代田区大手町2丁目1番1号 大手町野村ビル<br/>業務統括センター TEL: 03-6262-3564 FAX: 03-6262-3589<br/>ブランドコミュニケーション本部 TEL: 03-6262-3560 FAX: 03-6262-3577<br/>SI営業本部 SI販売室 TEL: 03-6262-3567 FAX: 03-6262-3577<br/>ソリューション推進室 TEL: 03-6262-3566 産業機器営業部 TEL: 03-6262-3570<br/>SE営業部 TEL: 03-6262-3569 MEソリューション販売室 TEL: 03-6262-3571</p> <p>東京支店 〒100-0004 東京都千代田区大手町2丁目1番1号 大手町野村ビル TEL: 03-6262-3580(代表) FAX: 03-6262-3588<br/>東京 S11グループ TEL: 03-6262-3581 東京 S12グループ TEL: 03-6262-5586<br/>ME営業グループ TEL: 03-6262-3583</p> <p>東京第二事務所 〒190-0012 東京都立川市曙町2丁目8番3号<br/>ソリューションビジネス部 TEL: 042-526-5098 FAX: 042-526-5099</p> <p>横浜事務所 〒222-0033 神奈川県横浜市港北区新横浜3丁目6番4号 新横浜千歳ビル6階 TEL: 045-474-2181 FAX: 045-474-2180</p> | <p>札幌支店 〒060-0809 北海道札幌市北区北9条西3丁目19番地 ノルテプラザ5階 TEL: 011-726-9680 FAX: 011-717-7305</p> <p>仙台支店 〒980-0021 宮城県仙台市青葉区中央2丁目2番1号 仙台三菱ビル6階 TEL: 022-222-3324 FAX: 022-265-0202</p> <p>筑波支店 〒305-0033 茨城県つくば市東新井18番1 TEL: 029-856-3220 FAX: 029-856-1639</p> <p>名古屋支店 〒450-0001 愛知県名古屋市中村区郡古野1丁目47番1号 名古屋国際センタービル14階 TEL: 052-581-1406 FAX: 052-581-2887</p> <p>大阪支店 〒532-0011 大阪府大阪市淀川区西中島5丁目14番5号 ニッセイ新大阪南口ビル11階 TEL: 06-6304-3941 FAX: 06-6304-7377</p> <p>西日本ソリューションセンター<br/>〒532-0011 大阪府大阪市淀川区西中島5丁目14番5号 ニッセイ新大阪南口ビル11階 TEL: 06-6305-0121 FAX: 06-6305-0105</p> <p>広島支店 〒730-0015 広島県広島市中区橋本町10番6号 広島 NSビル5階 TEL: 082-221-2500 FAX: 082-221-3611</p> <p>高松支店 〒760-0023 香川県高松市寿町1-1-12 パシフィックシティ高松5階 TEL: 087-821-0053 FAX: 087-822-0709</p> <p>福岡支店 〒812-0011 福岡県福岡市博多区博多駅前2丁目1番1号 福岡朝日ビル5階 TEL: 092-411-2381 FAX: 092-473-1649</p> | <p>海外事業所・営業所 Boston, Paris, London, Amsterdam, Stockholm, Sydney, Milan, Singapore, Munich, Beijing, Moscow, Sao Paulo ほか<br/>No. 1031C079E(Nd)</p> |
|---|---|---|