

理研NMR施設成果非占有利用報告書

09-200-023

平成 25 年 12 月 16 日

利用機関名	千葉工業大学	
実施部署名	工学部生命環境科学科	
実施責任者管理職名・氏名	教授 / 河合剛太	
実施部署所在地	千葉県習志野市津田沼 2-17-1	
利用課題名 (利用目的)	RNA の構造スクリーニングおよび構造クラスタリング手法の開発	
利用実施時期及び期間	平成 22 年 2 月 8 日～平成 22 年 2 月 14 日 <div style="text-align: center;"> 当初計画どおり 当初計画変更 (変更理由) </div>	
利用施設	NMR 装置 (該当部分) ○)	利用装置① ・ ()600MHz、()700MHz、(<input checked="" type="radio"/>)800MHz、()900MHz (<input checked="" type="radio"/>)低温プローブ付 ()固体プローブ付 ()サンプルエンジェー付 利用期間 1 : 平成 22 年 2 月 8 日～平成 22 年 2 月 14 日
利用満足度 (複数選択不可)	()大いに満足、(<input checked="" type="radio"/>)ほぼ満足、()やや不満、 ()大いに不満	

成果の概要	実施内容	<p>本課題では、マウスの細胞内において発現していると推定されている低分子 RNA (50-100 nt) について、それらが安定な立体構造を形成しているかどうかを NMR 法によって迅速に確認する手法の開発をめざし、NMR 試料管内において転写反応を行い、合成される RNA を精製することなく観測することを試みた。実際に 3 種類の候補 RNA について、NMR 試験管内転写を実施した。転写の鋳型 DNA としては、北海道システムサイエンス社によって調製されたものを水に溶かしてそのまま用いた。T7 RNA ポリメラーゼおよび $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ 標識 NTP は、大陽日酸社によって調製されたものを用い、反应用緩衝液は、市販の転写キット (ampliscribe) に添付されているものを用いた。すなわち、精製等の手間をかけることなく、RNA の立体構造スクリーニングを行うことを試みた。なお、NMR 試料管としては、シゲミ社製の対称式マイクロ試料管を用いた。</p> <p>210 μL の反応液を調製し、NMR 試料管に移したあと、25°C で連続測定を行った。</p>
	本課題により得られた成果、当初目標と結果との比較	<p>反応開始時点では、NTP に由来するシャープな NMR シグナルが観測されたが、数時間の後には、シャープなシグナルが減少し、NTP のシグナルに比べてブロードな RNA 由来と思われるシグナルが観測された。また、12~13 ppm 付近の塩基対を形成したイミノプロトンのシグナルが観測される領域にも、時間経過とともにシグナルが観測されるようになった。これらのことから、NMR 試料管内において転写反応が進み、その結果合成される RNA に由来するシグナルが観測できることが確かめられた。さらに、標識 NTP を用いていることから、RNA に由来するシグナルのみを選択的に合成でき、合成の経過を明確に把握できることがわかった。</p> <p>今回合成した 3 つの RNA のうち、ひとつは比較的良く分散したイミノプロトンスペクトルを与えることがわかり、したがって、反応液中で RNA が立体構造を形成することが示された。</p> <p>このように、当初の目標が明確に達成された。</p>

	今後の展開、課題	<p>今後は、すでに NMR スペクトルの解析が終わっていて、立体構造を形成することがわかっている RNA を対象に同様な実験を行い、本手法の有用性を検証していくことが必要である。また、効率の良い転写条件の検討を行い、短時間で解析可能なスペクトルを測定できる条件の検討を進めたいと考えている。</p> <p>なお、今回得られた結果を含めた論文発表を計画しています。</p>
成果公開延期の希望の有無	<p>() あり : (○) なし</p> <p>「あり」の場合理由：</p>	
利用における感想 (改善要望等を含む)	<p>長高感度の装置を利用できたため、良好なスペクトルを得ることができたと考えている。</p>	
利用周辺環境に関する希望	<p>特にありません。</p>	
今後の利用形態の予定	<p>() 成果の非公開を前提とした「外部利用」(有料)を考えている。</p> <p>(○) その他理研との共同研究等</p> <p>具体的に</p> <p>今後機会があれば、複数の試料についてオートサンプルチェンジャーを利用したスクリーニングを実施したいと考えている。</p>	
今後期待するその他のサービス	<p>() NMR 装置利用の教育 (これまで NMR を使用した経験の無い方に対する教育も含む)</p> <p>() NMR 装置利用の技術的なサポート</p> <p>() その他</p> <p>具体的に</p>	
その他	<p>(上記の項目以外でご意見等お願いします。)</p> <p>今後も、外部利用を継続していただきたいと思います。</p>	