

理研NMR施設成果非占有利用報告書

09-200-024

平成 26 年 1 月 23 日

利用機関名	大陽日酸株式会社	
実施部署名	SI 事業部	
実施責任者管理職名・氏名	営業部長 / 折笠 敬	
実施部署所在地	東京都品川区小山 1-3-26 東洋 Bldg.	
利用課題名 (利用目的)	位置選択的に安定同位体標識された長鎖 RNA の NMR シグナル解析手法の開発	
利用実施時期及び期間	平成 22 年 3 月 8 日～平成 22 年 3 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、() 800MHz、(○) 900MHz (○) 低温プローブ付 () 固体プローブ付 () サンプルチェンジャー付 利用期間 1 : 平成 22 年 3 月 8 日～平成 22 年 3 月 14 日
利用満足度 (複数選択不可)	(○) 大いに満足、() ほぼ満足、() やや不満、 () 大いに不満	

成果の概要	実施内容	<p>^{13}C および ^{15}N により安定同位体標識したアミダイトを用いて、位置特異的に選択標識した RNA 試料を調製した。アミダイトは、大陽日酸株式会社で合成したものである。試料は、ヒト免疫不全ウイルス (HIV-1) 由来の Rev responsive element (RRE) を構成する 35 残基の RNA 断片であり、8 番目と 26 番目のアデノシン (A) 残基を安定同位体標識したものである。試料の濃度は 0.016 mM と低く、千葉工業大学の NMR 装置 (600 MHz, 室温のプロープ) では、解析可能な NMR シグナルを得ることができなかった。そこで、理研の NMR 装置を使用して、^{13}C-^1H SQC スペクトルを測定した。</p> <p>さらに、C 型肝炎ウイルス (HCV) 由来のステムループである 28 残基の RNA (非標識) についても重水中における NOESY および HOHAHA スペクトルの測定を行った。クライオプロープを装着した 900 MHz の装置の効果で、感度および分解能が高いスペクトルを得ることができ、NMR シグナルの解析に役立った。</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>位置特異的に選択標識した RRE RNA 試料の ^{13}C-^1H SQC スペクトルを測定したところ、8 番目と 26 番目の A 残基の 8 位の CH および 2 位の CH に由来する相関シグナルをそれぞれ観測することに成功した。8 番目と 26 番目の A 残基は、RRE RNA の内部ループにあり、従来の連鎖帰属法ではシグナルを帰属することが困難であったが、今回観測された NMR シグナルによって、8 番目と 26 番目の A 残基に由来するシグナルを帰属することができた。</p> <p>HCV 由来の RNA についてもシグナルの帰属を行うことができ、同じく HCV ゲノム RNA の別の部位に由来する RNA 断片との相互作用の解析に役立てることができた。</p> <p>以上のように選択標識を行った RNA を調製することによって、低濃度であってもシグナルを観測し、帰属することができることがわかった。また、高感度高分解能の NMR 分光計が RNA の解析に有効であることが確かめられた。</p>
	今後の展開、課題	<p>RRE RNA の NMR シグナルを帰属することができたので、RRE RNA に結合するペプチドと複合体を形成させて、立体構造を決定する計画である。また、位置特異的に標識した RNA を連結し、比較的長い RNA を調製したうえで、NMR スペクトルの測定を行い、長鎖 RNA における位置特異的標識の有用性について実証していきたいと考えている。</p>

<p>成果公開延期の希望の有無</p>	<p>() あり : (O) なし 「あり」の場合理由：</p>
<p>利用における感想 (改善要望等を含む)</p>	<p>※本施設を利用して良かった点、改善してほしい点、提案事項など、施設利用の感想を記載してください。</p> <p>問題はありませんでした。</p>
<p>利用周辺環境に関する希望</p>	<p>問題はありませんでした。</p>
<p>今後の利用形態の予定</p>	<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。 (O) その他理研との共同研究等 具体的に</p> <p>成果の公開を前提とした外部利用を積極的に行いたいと考えている。</p>
<p>今後期待するその他のサービス</p>	<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) () NMR 装置利用の技術的なサポート () その他 具体的に</p> <p>特にありません。</p>
<p>その他</p>	<p>(上記の項目以外でご意見等お願いします。)</p> <p>特にありません。</p>