

理研NMR施設成果非占有利用報告書

09-200-025

平成 26 年 4 月 3 日

利用機関名	東京大学大学院農学生命科学研究科	
実施部署名	応用生命化学専攻 生物機能開発化学研究室	
実施責任者管理職名・氏名	准教授・三坂巧	
実施部署所在地		
実施部署連絡先		
利用課題名 (利用目的)	酸味を甘味に変える味覚修飾メカニズムの解明	
利用実施時期及び期間	平成 22 年 1 月 4 日～平成 24 年 3 月 25 日  <div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px;">当初計画どおり</div> ・当初計画変更 (変更理由)	
利用施設	NMR 装置 (該当 部分に ○)	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 4 月 21 日～平成 22 年 4 月 22 日 利用期間 2 : 平成 22 年 5 月 24 日～平成 22 年 5 月 25 日 利用期間 3 : 平成 22 年 7 月 7 日～平成 22 年 7 月 19 日 利用時間 4 : 平成 22 年 8 月 2 日～平成 22 年 8 月 15 日 利用期間 5 : 平成 22 年 8 月 30 日～平成 22 年 9 月 5 日 利用時間 6 : 平成 22 年 10 月 18 日～平成 22 年 10 月 25 日 利用時間 7 : 平成 22 年 12 月 14 日～平成 22 年 12 月 26 日 利用時間 8 : 平成 23 年 4 月 11 日～平成 23 年 4 月 24 日 利用時間 9 : 平成 23 年 5 月 16 日～平成 23 年 5 月 22 日

		利用時間 10 : 平成 23 年 9 月 12 日～平成 23 年 9 月 25 日 利用時間 11 : 平成 23 年 10 月 17 日～平成 23 年 10 月 24 日 利用時間 12 : 平成 23 年 12 月 12 日～平成 23 年 12 月 18 日 利用時間 13 : 平成 24 年 2 月 27 日～平成 24 年 3 月 11 日 利用時間 14 : 平成 24 年 3 月 12 日～平成 24 年 3 月 25 日
	立体構造解析 パイプ ライン	・ 発現確認 : 利用回数 2 回 ・ フォールド判定 : 利用回数 回 ・ 大量調製 : 利用回数 回 ・ 構造決定 : 利用回数 回
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>※実際に行った作業の概要について記載してください。</p> <p>味覚修飾タンパク質の一種であるネオクリンの pH に依存した立体構造変化について、NMR を利用した解析を実施した。最初にタンパク質の発現確認を依頼したが、活性のあるタンパク質を十分量得ることは困難だった。そこで実際には、それとは別に最少培地で発現・精製したタンパク質を用意した。</p> <p>pH に依存した立体構造変化の検出には <math>^1\text{H}</math>-<math>^{15}\text{N}</math> HSQC を利用した。様々な pH においてネオクリンタンパク質の <math>^1\text{H}</math>-<math>^{15}\text{N}</math> HSQC を測定し、pH に依存したスペクトル変化を解析した。その結果、pH に依存して主鎖の立体構造が変化すると予想されるアミノ酸残基が選別された。また主鎖のシグナル帰属には、<math>^1\text{H}</math>-<math>^{15}\text{N}</math> HSQC、HNCA、HN(CO)CA、CBCA(CO)NH、HNCACB を利用した。尚、各測定プログラムについては、小柴博士にご協力頂いた。</p>

	<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>	<p>※本課題実施の結果得られた成果および当初目標に対する達成度などについて記載してください。</p> <p><math>^1\text{H}</math>-<math>^{15}\text{N}</math> HSQC を利用した pH 滴定実験を行うことにより、ネオクリンタンパク質上で pH に依存して立体構造変化する可能性が高い構造領域を主鎖レベルで明らかにすることができた。タンパク質の溶解性が低いという問題から、各 pH における立体構造決定、およびそれに基づく pH に依存した立体構造変化の解析を行うことはできなかった。しかしながら、2次元 NMR を利用するだけでも、ネオクリンタンパク質の pH に依存した立体構造変化についての新たな知見を得ることができた。</p>
	<p>今後の展開、課題</p>	<p>※本課題の結果を踏まえた今後の展開方針および目的達成に向けた今後の課題などについて記載してください。</p> <p>本研究によりネオクリンタンパク質の pH に依存した立体構造変化についての知見が得られた。今後はその構造活性相関をしらべるための変異体解析を中心に研究を行う。あるいは、X線結晶構造解析を用いて、様々な pH における立体構造を決定するため、結晶化条件のスクリーニングを併行して進めていく。</p>
<p>成果公開延期の希望の有無</p>	<p>( ) あり : (○) 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>トラブルに備えて研究員の方が待機してくださっていたことは心強かったです。</p>
<p>利用周辺環境に関する希望</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。</p> <p>( ) その他理研との共同研究等</p> <p>具体的に</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)</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	(上記の項目以外でご意見等お願いします。)
-----	-----------------------

本報告書については、印刷または必要な編集・加工を行った上で公開します。また、別途開催予定の成果報告会・シンポジウムや委託事業報告書作成時において、本報告書の内容についての資料作成または発表をお願いする場合があります。

特許取得等の理由により公開の延期を希望する場合は必ず事前にご相談ください。