

理研NMR施設成果非占有利用報告書

11-200-044

利用機関名	大阪大学	
実施部署名	蛋白質研究所	
実施責任者管理職名・氏名	准教授 / 児嶋長次郎	
実施部署所在地		
実施部署連絡先		
利用課題名 (利用目的)	植物環境応答タンパク質の機能構造研究	
利用実施時期及び期間	平成23年 7月15日～平成23年 12月28日 総利用日数： <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)	<p>利用装置</p> <p>・()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</p> <p>利用期間1：平成 年 月 日～平成 年 月 日 利用期間2：平成 年 月 日～平成 年 月 日 利用期間3：平成 年 月 日～平成 年 月 日</p> <hr style="border-top: 1px dashed black;"/> <p>利用装置</p> <p>・()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</p> <p>利用期間1：平成 年 月 日～平成 年 月 日</p>

		利用期間 2 : 平成 年 月 日 ~ 平成 年 月 日 利用期間 3 : 平成 年 月 日 ~ 平成 年 月 日
		利用装置 ・ ()600MHz、()700MHz、()800MHz、()900MHz ()低温プローブ付 ()固体プローブ付 ()サンプルインジケータ付 利用期間 1 : 平成 年 月 日 ~ 平成 年 月 日 利用期間 2 : 平成 年 月 日 ~ 平成 年 月 日 利用期間 3 : 平成 年 月 日 ~ 平成 年 月 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	理研の標準的な 2-StepPCR 法によりコンストラクトを作製。直鎖状の DNA を鋳型として、大腸菌由来のセルフリー合成反応で発現実験を行なった。反応温度は 30 °C。反応スケールは 30 μL(微量透析法)で、終夜合成した産物全画分と遠心後の上清画分とをアセトン沈殿後に一部(合成反応液量で 1.7 μL 相当)を SDS/PAGE を行い、SYPRO Orange で染色した。染色像を目視し、バンドサイズの判定を行った。

	<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>	<p>本課題では、植物耐病性反応の中枢を司るキータンパク質と生長・開花を制御する光応答制御タンパク質の構造・機能解析を行うために、タンパク質の発現実験を行い、安定に発現するタンパク質フラグメントを同定することを目指した。</p> <p>本課題実施の結果、目的タンパク質の全てのコンストラクトで可溶性画分に発現しなかった。従って、当初目標である安定に発現するタンパク質フラグメントの同定は達成できなかった。</p> <p>発現を試みたタンパク質フラグメントには、コントロールとして実施責任者である児嶋が開発した大腸菌低温発現系で可溶性画分に発現するタンパク質フラグメントが複数含まれていた。このことから、大腸菌セルフリー法は本課題の目的タンパク質の発現には適さないと考えられる。</p>
	<p>今後の展開、課題</p>	<p>今後は、大腸菌低温発現系を用いて安定に発現するタンパク質フラグメントの同定を試みる。また低温条件での大腸菌セルフリー法の実施を検討する。</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>今回が初めての利用でネガティブな結果でしたが、立体構造解析パイプライン(発現確認)が大変優れたシステムであると実感しました。今後も是非とも利用させていただきたいと考えております。</p> <p>今回が初めてでしたので、少し戸惑いました。利用時に詳しく説明していただいたので、実施には何の問題もありませんでしたが、もう少し外部に情報を提示した方が良いかもしれません。例えば、WEBに料金実施内容の詳細や実施例、工程表などを提示するなどです。これらは利用を検討するユーザーにとって重要な判断材料です。</p>
<p>利用周辺環境に関する希望</p>	<p>特にありません。</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 具体的に</p> <p>発現確認での成果非占有利用を考えています。</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 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>

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。