

理研NMR施設成果非占有利用報告書

11-200-050

平成 25 年 12 月 3 日

利用機関名		首都大学東京
実施部署名		理工学研究科
実施責任者管理職名・氏名		教授、准教授 / 伊藤 隆、三島 正規
実施部署所在地		東京都八王子市南大沢 1-1
利用課題名		「In-cell NMR 法」のための測定・解析手法の開発
利用実施時期及び期間		平成 23 年 11 月 29 日 (変更理由) 当初計画では数週間程度の利用を予定していたが、試料調製の状況により、計 1 日間の使用となった。
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 23 年 11 月 29 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	GTP 結合タンパク質である Ras タンパク質の in-cell NMR 測定のための基礎的データの収集を行った。In-cell において観測にもちいるスペクトルとしては ^1H - ^{15}N HSQC が頻用される。しかし Ras の挙動を追跡するためには結合した GTP や GDP のリン酸のリンの信号も大変有用である。 そこで Ras 結合型の GTP、GDP 由来のリン酸の ^{31}P の NMR 信号を、従来から多く報告例がある単純な測定も含めて、様々なパルス系列を用いて行った。In-cell 測定のための基礎として、まず、精製された Ras を用いて、in vitro での測定を行った。

	<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>	<p>本課題では In-cell NMR の測定手法の研究・開発を行うことを目的としていた。Ras タンパク質は医学・生物学的に非常に重要で、立体構造や NMR データ等の豊富な蓄積があることから、題材として適切である。しかしながら、従来 In-cell NMR 測定の成功が報告されているタンパク質としては分子量も大きく、測定のためには（意味ある情報の取得のためには）、単に ^1H-^{15}N HSQC にとどまらず、^{31}P の利用を含めた様々な測定法を試みる必要がある。また、まだ Ras タンパク質の培養細胞への導入などが成功していない段階であったが、in vitro の試料を用いて様々な NMR 実験、パラメータを確立しておく必要があった。今回その予備実験としての目的は、ほぼ達成できた。</p>
	<p>今後の展開、課題</p>	<p>Ras タンパク質を実際に HeLa 等の培養細胞にコンスタントに導入するための条件検討、あるいは手法の改良、確立が必要である。やはりその際にも通常の多次元測定だけではなく、今回基礎的データを収集した ^{31}P 測定や、場合によっては ^{19}F の測定が有効なプローブとなるであろう。</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>理研の受け入れ体制は非常に充実しており、測定装置利用等における問題はなかった。</p> <p>最近では、各研究室に設置された NMR では、多くの場合 ^1H、^{13}C、^{15}N 測定用のクライオプローブが取り付けられており、多核の測定のためには、従来よりも煩雑なプローブの取り替え作業が必要で、実際にはこのような作業は現実的でない。このような状況の中で、^{31}P や ^{19}F に対応したプローブが比較的高磁場の NMR に設置されている理研でマシンタイムが開放されていることは非常に貴重なことである。今後も通常のクライオプローブ以外の多様な核に対応したプローブの設置を期待します（従来よりも、拠点において設置する必要性、意義が増していると考えます。）</p>	
<p>利用周辺環境に関する希望</p>	<p>とくになし。</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 特定課題利用において、無償での利用を考えたい。</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 アカデミアに対して、無償での提供を継続的にお願いしたい。</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>このような装置の開放には、装置や施設といったハード面だけではなく、対応して下さる方の、人的資源の確保が大切だと思います。いつも理研では、とてご丁寧に対応していただき、測定ができています。このようなスタッフの方々が今後も継続的に活躍できる仕組みの確立が、NMR の開放にとって、単に装置の維持以上に大切な問題であると思います。</p>