

理研NMR施設利用報告書  
(トライアルユース)

11-500-025

平成 24 年 7 月 9 日

利用機関名	旭硝子株式会社
実施部署名	ASPEX事業部
実施責任者管理職名・氏名	主幹・東田英毅
実施部署所在地	〒100-8405 東京都千代田区丸の内 1-5-1
実施部署連絡先	
利用課題名	分裂酵母を用いた物質生産系の開発
利用目的・内容	<p>申請者らが独自に開発を進めている分裂酵母を用いた物質生産系をもちいて作製するタンパク質の、NMRを用いた最初の構造解析を行う。分裂酵母は真核細胞であり、そのシグナル伝達系が出芽酵母よりもヒトに近いと言われ、将来有望な物質生産系として期待されている。本課題では以下の二つの項目を設定した。</p> <p><u>項目 1：分裂酵母の天然タンパク質である Hsp9 の構造解析</u></p> <p>Hsp9 はリコンビナントではなく内在性タンパク質であり、本項目は分裂酵母の天然タンパク質のNMRによる最初の解析例である</p> <p><u>項目 2：分裂酵母を用いた選択的安定同位体標識システムの開発と、本システムで調製したリコンビナントタンパク質の構造解析</u></p> <p>Hsp9 はストレス応答タンパク質であるが、そのストレス応答の仕組みを利用することで、高効率の選択的安定同位体標識システムが開発できる可能性が高い。高効率選択的安定同位体標識システムで調製したリコンビナントタンパク質の構造解析を行う。今後、汎用となることが期待される分裂酵母を用いた物質生産系でつくったリコンビナントタンパク質のNMRによる構造解析の最初の例である。</p>

<p>利用実施時期及び期間</p>	<p>平成23年9月14日～平成24年3月30日</p> <p>総利用日数：以下、利用施設参照</p> <p style="text-align: center;"><del>当初計画どおり</del>・当初計画変更</p> <p>(変更理由) 予定していた二つの課題のうちのひとつに関して、その前提となる生化学的解析が当該研究期間内に終わらなかったために、当該課題が実施出来なかった。</p>	
<p>利用施設</p>	<p>NMR 装置 (該当部分に○)</p>	<p>利用装置①</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・(○)600MHz、( )700MHz、( )800MHz、( )900MHz</li> <li>( )低温プローブ付 ( )固体プローブ付</li> <li>( )サンプルチェンジャー付</li> </ul> <p>利用期間1：平成23年 9月26日～平成23年10月 2日      利用期間2：平成24年 1月23日～平成24年 1月29日      利用期間3：平成24年 1月30日～平成24年 2月 5日</p> <hr/> <p>利用装置②</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・(○)600MHz、( )700MHz、( )800MHz、( )900MHz</li> <li>(○)低温プローブ付 ( )固体プローブ付</li> <li>( )サンプルチェンジャー付</li> </ul> <p>利用期間1：平成23年 9月15日～平成23年 9月25日      利用期間2：平成23年 9月30日～平成23年10月 2日      利用期間3：平成23年10月 3日～平成23年10月10日      利用期間4：平成23年10月17日～平成23年10月17日      利用期間5：平成23年10月21日～平成23年11月 9日      利用期間6：平成24年 1月16日～平成24年 1月22日      利用期間7：平成24年 1月16日～平成24年 1月22日      利用期間8：平成24年 1月23日～平成24年 2月12日      利用期間9：平成24年 1月23日～平成24年 2月 5日      利用期間10：平成24年 1月23日～平成24年 2月 5日      利用期間11：平成24年 1月27日～平成24年 2月 2日      利用期間12：平成24年 2月 7日～平成24年 2月13日      利用期間13：平成24年 3月 6日～平成24年 3月18日</p> <hr/> <p>利用装置③</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・( )600MHz、(○)700MHz、( )800MHz、( )900MHz</li> <li>(○)低温プローブ付 ( )固体プローブ付</li> <li>( )サンプルチェンジャー付</li> </ul> <p>利用期間1：平成23年 9月15日～平成23年 9月25日</p>

		<p>利用装置④</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ ( )600MHz、( )700MHz、( <input checked="" type="radio"/> )800MHz、( )900MHz</li> <li>( )低温プローブ付 ( )固体プローブ付</li> <li>( )サンプルチェンジャー付</li> </ul> <p>利用期間1：平成23年 9月14日～平成23年10月 2日  利用期間2：平成23年10月 3日～平成23年10月16日  利用期間3：平成23年11月 9日  利用期間4：平成23年11月10日  利用期間5：平成23年11月28日～平成23年12月 4日  利用期間6：平成23年12月12日～平成23年12月18日  利用期間7：平成24年3月22日</p> <hr/> <p>利用装置⑤</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ ( )600MHz、( )700MHz、( <input checked="" type="radio"/> )800MHz、( )900MHz</li> <li>( <input checked="" type="radio"/> )低温プローブ付 ( )固体プローブ付</li> <li>( <input checked="" type="radio"/> )サンプルチェンジャー付</li> </ul> <p>利用期間1：平成23年 9月22日～平成23年10月 2日  利用期間2：平成23年 9月26日～平成23年10月 2日  利用期間3：平成23年10月11日～平成23年10月19日  利用期間4：平成23年10月21日～平成23年11月 6日  利用期間5：平成23年10月27日～平成23年11月 9日  利用期間6：平成24年 3月26日～平成24年 3月29日</p> <hr/> <p>利用装置⑥</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ ( )600MHz、( )700MHz、( )800MHz、( <input checked="" type="radio"/> )900MHz</li> <li>( )低温プローブ付 ( )固体プローブ付</li> <li>( )サンプルチェンジャー付</li> </ul> <p>利用期間1：平成23年 9月20日～平成23年10月 2日  利用期間2：平成23年10月31日～平成23年11月10日  利用期間3：平成23年10月31日～平成23年11月10日  利用期間4：平成23年11月21日～平成23年12月 4日  利用期間5：平成23年12月 5日～平成23年12月18日  利用期間6：平成23年12月19日～平成23年12月25日  利用期間7：平成24年 3月19日～平成24年 3月25日</p>
--	--	---

		<p>利用装置⑦</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ ( ) 600MHz、( ) 700MHz、( ) 800MHz、( <input checked="" type="radio"/> ) 900MHz</li> <li>・ ( <input checked="" type="radio"/> ) 低温プローブ付 ( ) 固体プローブ付</li> <li>・ ( ) サンプルチェンジャー付</li> </ul> <p>利用期間 1：平成 24 年 3 月 19 日～平成 24 年 3 月 25 日</p>
	立体構造解析パイプライン	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 発現確認 : 利用回数 0 回</li> <li>・ フォールド判定 : 利用回数 0 回</li> <li>・ 大量調製 : 利用回数 0 回</li> <li>・ 構造決定 : 利用回数 0 回</li> </ul>
利用満足度 (複数選択不可)		<p>( ) 大いに満足、( <input checked="" type="radio"/> ) ほぼ満足、( ) やや不満、 ( ) 大いに不満</p>
成果の概要	実施内容	<p><u>項目 1：分裂酵母の天然タンパク質である Hsp9 の構造解析</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 分裂酵母のための安定同位体標識培地を用いて Hsp9 の安定同位体標識試料を調製し、構造解析を行った。</li> </ul> <p><u>項目 2：分裂酵母を用いた選択的安定同位体標識システムの開発と、本システムで調製したリコンビナントタンパク質の構造解析</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ ストレス応答を惹起する培養条件を調べた。</li> </ul>
	本課題により得られた成果、当初目標と結果との比較	<p><u>項目 1：分裂酵母の天然タンパク質である Hsp9 の構造解析</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ Hsp9 が、intrinsically disordered protein であることが分かった。ただし、分子全体が disorder 状態ではなく、その一部はなんらかの構造をとっており、さらに、その構造多型が示唆された。</li> </ul> <p><u>項目 2：分裂酵母を用いた選択的安定同位体標識システムの開発と、本システムで調製したリコンビナントタンパク質の構造解析</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 温度、塩濃度、エタノール濃度の変化による Hsp9 の一過的な発現を調べた。条件がそろえば、Hsp9 の発現量は、細胞内全タンパク質の数十パーセントを占めるくらいに達することが分かったが、どの条件が効いているのかをはっきりと特定するには至らなかった。</li> </ul>
	今後の展開、課題	<p>今回、intrinsically disordered protein であることが分かった Hsp9 はシャペロニンであると考えられる。分裂酵母をリコンビナントタンパク質の生産系として用いる場合、その product の品質を高めるシャペロニンの研究は、当該真核細胞用の物質生産技術開発においては非常に有意であり、今後も当該研究を推進したい。</p>

社会・経済への波及効果の見通し	抗体医薬の製造、等、高品質のリコンビナントタンパク質の廉価生産技術の開発は急務であり、本研究はそれにつながるものである。
成果公開延期の希望の有無	( <input type="radio"/> ) あり : ( <input type="radio"/> ) なし 「あり」の場合理由：論文発表までは成果公開の延期を希望する
理研 NMR 施設利用における感想	NMRによる分子機能構造の解析は生命科学には不可欠であるが、装置の維持・管理は、分野外の者（事業所）にとってはますます困難となりつつあるので、このような形での施設の運用を強く要望する。サポート体制は万全で非常に有り難かった。
利用周辺環境に関する希望	C D、等、他の設備の使用機会が与えられることを希望する。
今後の利用形態の予定	( <input type="radio"/> ) 再度本事業への申請を考えている。 ( <input type="radio"/> ) 成果の非公開を前提とした「外部利用」（有料）を考えている。 ( <input type="radio"/> ) その他理研との共同研究等を考えている。 具体的に：抗体ライブラリーを用いた有用抗体の開発 ( <input type="radio"/> ) 未定
今後期待するその他のサービス	( <input type="radio"/> ) 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） ( <input type="radio"/> ) NMR 装置利用の技術的なサポート ( <input type="radio"/> ) その他 具体的に
文部科学省の共用ナビ（研究施設共用総合ナビゲーションサイト）に対する感想・改善について	( <a href="http://kyoyonavi.mext.go.jp/">http://kyoyonavi.mext.go.jp/</a> ) ( <input type="radio"/> ) 見た : ( <input type="radio"/> ) 見ていない 感想等：当該サイトには掲載されているのに、実質的には使用出来ない装置がいくつかあるので、改善を希望する。
その他	(上記の項目以外でご意見等お願いします。) 本研究には、東京工業大学生命理工学研究科・林宣宏准教授) との共同研究を含みます。

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。