## 理研NMR施設利用報告書

(トライアルユース)

12-500-032 平成 25 年 5 月 16 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		分裂酵母天然変性タンパク質 Hsp9 の構造解析によるストレス応答機構の解明
利用目的・内容		分裂酵母のストレスの仕組みを解明する。分裂酵母のストレス応答
		タンパク質である Hsp9 を、(リコンビナントではなく) 安定同位体標識した分裂酵母から精製して、その機能構造を調べた。
利用実施時期及び期間		平成 24年 12月 3日~平成 25年 3月 31日
		当初計画どおり
		(変更理由)
利用施設	NMR	利用装置①
	装置	-( O )600MHz,( )700MHz,( )800MHz,( )900MHz
	(該当	( )低温プローブ付 ( )固体プローブ付 ( )サンプルチェ
	部分に	ンジャー付
	O)	利用期間 1: 平成 24 年 12 月 26 日~平成 25 年 1 月 7 日

		利用期間 2: 平成 25年1月7日~平成 25年1月 20日
		利用期間 3: 平成 25 年 1 月 28 日~平成 25 年 2 月 11 日
		利用期間 4: 平成 25 年 3 月 11 日~平成 25 年 3 月 17 日
		利用装置②
		-( O )600MHz,( )700MHz,( )800MHz,( )900MHz
		( 〇 )低温プローブ付 ( )固体プローブ付 ( )サンプル
		チェンシ゛ャー付
		利用期間 1: 平成 24 年 12 月 28 日~平成 25 年 1 月 16 日
		利用期間 2: 平成 25 年 1 月 28 日~平成 25 年 1 月 24 日
		利用期間 3: 平成 25 年 1 月 25 日~平成 25 年 2 月 3 日
		利用装置③
		-( )600MHz、( O )700MHz、( )800MHz、( )900MHz
		( O )低温プローブ付 ( )固体プローブ付 ( )サンプル
		チェンシ゛ャー付
		利用期間 1: 平成 25 年 1 月 28 日~平成 25 年 2 月 3 日
		利用装置④
		-( )600MHz,( )700MHz,( )800MHz,( O )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 24 年 12 月 3 日~平成 24 年 12 月 9 日
		利用期間 2: 平成 24 年 12 月 17 日~平成 25 年 1 月 6 日
		利用期間 3: 平成 25 年 2 月 18 日~平成 25 年 3 月 3 日
	立体構	・発現確認 : 利用回数 O回
	造解析	
	パイプ	
	ライン	・大量調製 : 利用回数 O回
		・構造決定 : 利用回数 O回
│ │利用満足度		( )大いに満足、( ○ )ほぼ満足、(   )やや不満、
(複数選択不可)		()大いに不満

#### 成果の概要

実施内容

#### ※実際に行った作業の概要について記載してください。

分裂酵母 S. pombe がストレスを感じると、Hsp9 が高発現することを見いだした。S. pombe のストレス応答の分子機構を調べるために、Hsp9 の機能構造の解析を行った。

最初に、分裂酵母用の安定同位体標識培地を検討し、S. pombe の安 定同位体標識に成功した。

次に、この培地を用いて、安定同位体標識した Hsp9 を調製した。 これはリコンビナントではなく、天然のものなので、翻訳後修飾、 等も本来の状態を保っている。

得られた安定同位体試料を用いて、構造解析を行った。

# 本よれ果目果りた、当にられ、当にものでは、当とのはいまれません。

較

※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。

今回、当初の目標であった、Hsp9 の構造決定に成功した。その結果、 Hsp9 が天然変性タンパクであることが解った。

また、リコンビナントではなくて、天然の分子を調べることにより、 翻訳後修飾 (チロシンリン酸化) の可能性を見いだすことが出来た。

これらは、本課題立案時に目指していた成果であり、それが本研究 期間内に達成されたことは非常に有意義であった。

#### 今後の展 開、課題

※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。

Hsp9 は天然変性タンパク質であり、ストレス応答時に、複数のストレス応答タンパク質の相互作用のためのハブとして機能していることが予想される。今後は、これら、Hsp9 を起点として機能するタンパク質の同定が課題であり、それら複合体の機能構造の解析が必要である。

また、今回、示唆された翻訳後修飾 (チロシンリン酸化) は、ストレス応答分子複合体の制御に効いている可能性があり、そのメカニズムを解明することが望まれる。

# 社会・経済への波及効果の見通し

分裂酵母は物質生産系として有望視されているが、人為的に物質を 生産させたときのストレス応答による生産性の低下が問題となる。 本研究でそのコントロールが可能となれば、高性能の物質生産系の 開発につながる。

## 成果公開延期の希望の有無

( )あり : ( O )なし

「あり」の場合理由:

### 理研 NMR 施設利用にお ける感想

※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。

企業の研究所や大学、等の各事業所でNMRを継続的に維持することは、昨今、非常に難しくなっており、また、非効率的である。また、NMRの扱いには高度のスキルと経験が必要とされ、装置だけがあっても、専門家がいなければ運用出来ない。したがって、本施設の今後の継続と使用公開は強く望まれる。

利用周辺環境に関する	
希望	   実験には長時間に及ぶ待ち時間が伴う場合があるので、待っている
	   間に作業が出来る場所(部屋)が望まれる。
	   また、一時的な試薬やサンプルの保管場所(冷蔵庫、冷凍庫)が望
	   まれる。
今後の利用形態の予定	( 〇 )再度本事業への申請を考えている。
	()成果の非公開を前提とした「外部利用」(有料)を考えてい
	る。
	   ( )その他理研との共同研究等を考えている。
	具体的に:
	) (  )未定
今後期待するその他の	( 〇 )NMR装置利用の教育(これまで NMRを使用した経験の無
サービス	   い方に対する教育も含む)
	│
	()その他
	具体的に
	X11 H31 -
   文部科学省の共用ナビ	(http://kyoyonavi.mext.go.jp/)
(研究施設共用総合ナ	
   ビゲーションサイト)	   感想等 :
に対する感想・改善に	
ついて	
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。