

理研NMR施設利用報告書

(産学連携無償利用)

14-700-011

平成 27 年 8 月 1 日

利用機関名	公立大学法人 福島県立医科大学	
実施部署名	医学部 生体物質研究部門	
実施責任者管理職名・氏名	准教授 / 本間美和子	
実施部署所在地	福島市光が丘 1 番地	
実施部署連絡先		
利用課題名	ヒト由来プロテインキナーゼ活性制御に関する構造科学的解析	
利用目的・内容	セリン・スレオニンキナーゼのひとつCK2について、特定のアミノ酸部位が酵素活性化に必須の役割を果たすことを見出したことから、本課題では無細胞タンパク合成系による複数の試料を調製し、これまで得られた生化学的解析結果を検証するとともに、NMR 解析による構造科学的知見を得ることを目的とした。	
利用実施時期及び期間	平成 26 年 11 月 25 日 ~ 平成 27 年 6 月 1 日 当初計画変更（変更理由） わずかな条件の違いで調製失敗となる困難なタンパク質の調製をやり直したため、実施期間を延長した。	
利用施設	立体構造解析 パイプライン	<ul style="list-style-type: none"> ・ 発現確認 : 利用回数 0 回 <hr style="border-top: 1px dashed black;"/> ・ フォールド判定 : 利用回数 0 回 <hr style="border-top: 1px dashed black;"/> ・ 大量調製 : 利用回数 4 回
利用満足度 (複数選択不可)	<input type="checkbox"/> 大いに満足、 <input type="radio"/> ほぼ満足、 <input type="checkbox"/> やや不満、 <input type="checkbox"/> 大いに不満	

<p>研究チームの構成 (連携機関先も含む)</p>	<p>公立大学法人 福島県立医科大学 医学部 生体物質研究部門 准教授 本間美和子 所在地：〒960-1295 福島県福島市光が丘1番地</p> <p>東北メディカル・メガバンク機構 ゲノム解析部門 准教授 小柴生造 所在地：〒980-8573 宮城県仙台市青葉区星陵町2-1</p> <p>株式会社 加速器分析研究所・副社長 松井隆幸 所在地：〒214-0013 川崎市多摩区登戸新町129-1</p>						
<p>成果の概要</p>	<table border="1"> <tr> <td data-bbox="403 752 539 1070"> <p>実施内容</p> </td> <td data-bbox="539 752 1410 1070"> <p>酵素野生型、ならびに活性に重要な役割を果たすと予想されるアミノ酸部位の変異体について、NMR 立体構造解析パイプラインの無細胞タンパク合成システムを用いて調製した。本事業では、目的タンパクの十分な発現量を確認し可溶性の検討を行うと共に、生化学的解析を実施し、有用なデータを得ることが出来た。</p> </td> </tr> <tr> <td data-bbox="403 1070 539 1518"> <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> </td> <td data-bbox="539 1070 1410 1518"> <p>本事業では、NMR 立体構造解析パイプラインの無細胞タンパク合成システムを用いることにより、既に大腸菌発現タンパクを試料とした際に見出された生化学的特性が再現できたことから、タンパクの高次構造上の特徴を解くことが酵素活性制御の仕組みに繋がる確証を得た。特に、これまで質量マス解析により明らかにした特定のリン酸化部位について、貴パイプライン無細胞タンパク合成システムにより複数種類の変異体を合成いただいた事が、今後の解析に繋がるデータを得るために大変有益であった。</p> </td> </tr> <tr> <td data-bbox="403 1518 539 1854"> <p>今後の展開、課題</p> </td> <td data-bbox="539 1518 1410 1854"> <p>機能ドメインについての変異体については、chemical ligationによる再構成を試み、活性への影響を検討した。特定のリン酸化修飾が活性制御に重要な役割を果たす可能性について、非水解性修飾体を用い検証する予定であったが、今後の課題として残った。</p> <p>構造解析結果が得られれば、連携企業においては、高分子を対象とする創薬等、新分野への発展的な事業展開が期待される。</p> </td> </tr> </table>	<p>実施内容</p>	<p>酵素野生型、ならびに活性に重要な役割を果たすと予想されるアミノ酸部位の変異体について、NMR 立体構造解析パイプラインの無細胞タンパク合成システムを用いて調製した。本事業では、目的タンパクの十分な発現量を確認し可溶性の検討を行うと共に、生化学的解析を実施し、有用なデータを得ることが出来た。</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>本事業では、NMR 立体構造解析パイプラインの無細胞タンパク合成システムを用いることにより、既に大腸菌発現タンパクを試料とした際に見出された生化学的特性が再現できたことから、タンパクの高次構造上の特徴を解くことが酵素活性制御の仕組みに繋がる確証を得た。特に、これまで質量マス解析により明らかにした特定のリン酸化部位について、貴パイプライン無細胞タンパク合成システムにより複数種類の変異体を合成いただいた事が、今後の解析に繋がるデータを得るために大変有益であった。</p>	<p>今後の展開、課題</p>	<p>機能ドメインについての変異体については、chemical ligationによる再構成を試み、活性への影響を検討した。特定のリン酸化修飾が活性制御に重要な役割を果たす可能性について、非水解性修飾体を用い検証する予定であったが、今後の課題として残った。</p> <p>構造解析結果が得られれば、連携企業においては、高分子を対象とする創薬等、新分野への発展的な事業展開が期待される。</p>
<p>実施内容</p>	<p>酵素野生型、ならびに活性に重要な役割を果たすと予想されるアミノ酸部位の変異体について、NMR 立体構造解析パイプラインの無細胞タンパク合成システムを用いて調製した。本事業では、目的タンパクの十分な発現量を確認し可溶性の検討を行うと共に、生化学的解析を実施し、有用なデータを得ることが出来た。</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>本事業では、NMR 立体構造解析パイプラインの無細胞タンパク合成システムを用いることにより、既に大腸菌発現タンパクを試料とした際に見出された生化学的特性が再現できたことから、タンパクの高次構造上の特徴を解くことが酵素活性制御の仕組みに繋がる確証を得た。特に、これまで質量マス解析により明らかにした特定のリン酸化部位について、貴パイプライン無細胞タンパク合成システムにより複数種類の変異体を合成いただいた事が、今後の解析に繋がるデータを得るために大変有益であった。</p>						
<p>今後の展開、課題</p>	<p>機能ドメインについての変異体については、chemical ligationによる再構成を試み、活性への影響を検討した。特定のリン酸化修飾が活性制御に重要な役割を果たす可能性について、非水解性修飾体を用い検証する予定であったが、今後の課題として残った。</p> <p>構造解析結果が得られれば、連携企業においては、高分子を対象とする創薬等、新分野への発展的な事業展開が期待される。</p>						

<p>社会・経済への波及効果の見通し</p>	<p>機能タンパクについての詳細な構造解析は先端機器を擁する研究環境ならびに専門研究者の協力が必須であり、どこでも出来ることではない。創薬における分子標的薬の観点から、貴事業は、今後有用なデータを提供する基盤になると期待される。</p>
<p>成果公開延期の希望の有無</p>	<p><input type="checkbox"/> なし : <input checked="" type="radio"/> あり 「あり」の場合理由： 論文投稿準備のため</p> <p>延期希望期間 : (利用報告書提出日より最大2年)</p>
<p>理研 NMR 施設利用における感想</p>	<p>活性制御解析の実験系においては、培養細胞系を用いた tag 付きタンパク発現等の生化学データと、大腸菌を用いた野生型ならびに変異型リコンビナントタンパクを用いた検証結果を照らし合わせる必要がある。今回、あらためて貴施設パイプラインが提供される、無細胞タンパク合成系が大変優れたシステムである事を実感した。</p> <p>遠方からの利用であったが、タンパク合成系を含むすべての解析について、スタッフの方々にたいへん誠意を持ってご対応いただいたことを、深く感謝しています。</p> <p>施設利用が混み合っているようだが、台数も限られている中ご対応くださり、まことに有難うございました。</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><input type="checkbox"/> 再度本事業への申請を考えている。 <input type="checkbox"/> 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="checkbox"/> その他理研との共同研究等を考えている。 具体的に：</p> <p><input checked="" type="radio"/> 未定</p>
<p>今後期待するその他のサービス</p>	<p><input type="checkbox"/> 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="checkbox"/> NMR 装置利用の技術的なサポート</p>

	() 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	(http://kyoyonavi.mext.go.jp/) (○) 見た : () 見ていない 感想等 : 有益情報が提供されていると思う。
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。