

# 理研NMR施設利用報告書

(産学連携無償利用)

課題受付番号 : 15-700-014

利用機関名	京都大学大学院	
実施部署名	農学研究科	
実施責任者管理職名・氏名	准教授 丸山伸之	
実施部署所在地	宇治市五ヶ庄	
実施部署連絡先		
利用課題名	アレルギーコンポーネントの立体構造解析	
利用目的・内容	<p>世界で増加の一途をたどっている食物アレルギー性の疾患に対して治療薬の開発が試みられているが、根本的な治療はアレルギーの原因物質「アレルギー」の除去・回避となる。そのためには、原因となるアレルギーを正確に診断できる検査が重要である。これまでに申請者らはアレルギーコンポーネントを検査に利用することにより、臨床的感度が格段に向上することを報告している。本課題では、これらのアレルギーコンポーネントの立体構造を決定し、高性能化するための基盤を構築することを目的とする。</p>	
利用実施時期及び期間	<p>平成 27 年 4 月 2 日 ~ 平成 27 年 9 月 24 日</p> <p style="text-align: center;">(当初計画どおり)・当初計画変更 (どちらかを○で囲む) (変更理由)</p>	
利用施設	立体構造解析	・発現確認 : 利用回数 1 回
	パイプ	・フォールド判定 : 利用回数 2 回
	ライン	・大量調製 : 利用回数 2 回

	NMR 装置 (該当 部分に ○)	利用装置① ・ ( ) 溶液 600MHz、( ) 溶液 700MHz、( ) 溶液 800MHz、 (○) 溶液 900MHz、( ) 固体 700MHz 利用期間 1 : 平成 27 年 9 月 16 日 ~ 平成 27 年 9 月 23 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
	構造決 定	利用回数 0 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
研究チームの構成 (連携機関先も含む)		大学責任者 所属 京都大学大学院農学研究科 役職 准教授 氏名 丸山 伸之  企業責任者 サーモフィッシャー株式会社 部署 学術本部 役職 部長 氏名 田中 昭
成果の概要	実施内容	1) サンプルの N 末端にタグを連結した発現コンストラクトを作成し、最適な発現条件を検討した。 2) 15N 標識されたサンプルの調製を行い、NMR 測定によりフォールド判定を行った。タグ切断ののち NMR (HSQC) を測定した。 3) 非標識体の試料を大量調製し、収量および NMR スペクトルについて検討した。 4) 構造解析用途のため安定同位体 13C, 15N の 2 重標識体の試料を調製した。900MHz の NMR 装置で、タンパク質の共鳴線帰属に必要な測定を行った。

	<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>1) 可溶性に十分量の発現が確認された。N 末端タグも問題なく切断されることが確認された。</p> <p>2) フォールド判定から、全長はある程度シグナルが分かれており、ある程度まで解析可能であるが解析には時間を要する見込みであることなどが示唆された。</p> <p>3) 非標識体の試料の調製から、測定感度を得るために必要な溶解度がやや低いことが分かった。精製試料の <sup>1</sup>H NMR 測定により、少なくとも部分的にはきちんとした立体構造をとっていることが分かった。</p> <p>4) 2 重標識体の発現・精製において、収量はやや低めであり、測定感度を得るための溶解度がやや低いことは問題となる可能性が示唆された。精製試料の NMR 測定により、少なくとも部分的にはきちんとした立体構造をとっているが、観測されたピークの数から解析は難航しそうであることが示唆された。また、精製直後の <sup>15</sup>N-HSQC スペクトルに比べて測定中にピーク数が増えていることから、サンプルの分解が進行しているのではないかと考えられた。</p>
	<p>今後の展開、課題</p>	<p>測定中に分解が起こっていることが示唆されたため、新たに NMR 試料を作り、測定する必要があると考えられた。また、継続してデータ解析を行うことにより、コンポーネントの構造解析における課題が明確になると考えられる。</p>
<p>社会・経済への波及効果の見通し</p>	<p>本研究を継続することにより、食物アレルギーの診断に NMR 構造解析が役立つことが期待される。</p>	
<p>成果公開延期の希望の有無</p>	<p>( ) なし : (○) あり</p> <p>「あり」の場合理由： 他企業と競合する可能性があるため</p> <p>延期希望期間 : 2 年 (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>スタッフの方々が非常に親切であり、非常に利用しやすく、効率的に課題を進めることができた。</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>( )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</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）  (○) NMR 装置利用の技術的なサポート  ( ) その他  具体的に</p>
<p>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</p>	<p>(<a href="http://kyoyonavi.mext.go.jp/">http://kyoyonavi.mext.go.jp/</a>)  (○) 見た : ( ) 見ていない  感想等：わかりやすい</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>

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。