

理研NMR施設利用報告書
(産学連携無償利用)

15-700-015

利用機関名	京都大学大学院農学研究科
実施部署名	品質設計開発学分野
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	京都府宇治市五ヶ庄
実施部署連絡先	TEL : FAX : E-mail :
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	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。
利用実施時期及び期間	平成 27 年 9 月 28 日～平成 28 年 3 月 27 日 当初計画どおり・当初計画変更 (変更理由)

利用施設	NMR 装置 (該当 部分に ○)	<p>利用装置①</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ (<input type="radio"/>) 600MHz、 (<input type="checkbox"/>) 700MHz、 (<input type="checkbox"/>) 800MHz、 (<input type="checkbox"/>) 900MHz (<input type="checkbox"/>) 低温プローブ付 (<input type="checkbox"/>) 固体プローブ付 (<input type="checkbox"/>) サンプルチェンジャー付 <p>利用期間 1: 平成 27 年 11 月 24 日 ~ 平成 27 年 11 月 29 日 利用期間 2: 平成 28 年 1 月 4 日 ~ 平成 28 年 1 月 7 日 利用期間 3: 平成 28 年 3 月 14 日 ~ 平成 28 年 3 月 21 日</p>
		<p>利用装置②</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ (<input type="checkbox"/>) 600MHz、 (<input checked="" type="radio"/>) 700MHz、 (<input type="checkbox"/>) 800MHz、 (<input type="checkbox"/>) 900MHz (<input type="checkbox"/>) 低温プローブ付 (<input type="checkbox"/>) 固体プローブ付 (<input type="checkbox"/>) サンプルチェンジャー付 <p>利用期間 1: 平成 27 年 9 月 28 日 ~ 平成 27 年 10 月 4 日 利用期間 2: 平成 27 年 11 月 19 日 ~ 平成 27 年 11 月 23 日 利用期間 3: 平成 28 年 3 月 22 日 ~ 平成 28 年 3 月 27 日</p>
		<p>利用装置③</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ (<input type="checkbox"/>) 600MHz、 (<input type="checkbox"/>) 700MHz、 (<input type="checkbox"/>) 800MHz、 (<input checked="" type="radio"/>) 900MHz (<input type="checkbox"/>) 低温プローブ付 (<input type="checkbox"/>) 固体プローブ付 (<input type="checkbox"/>) サンプルチェンジャー付 <p>利用期間 1: 平成 27 年 9 月 28 日 ~ 平成 27 年 10 月 4 日 利用期間 2: 平成 27 年 10 月 9 日 ~ 平成 27 年 10 月 20 日</p>
	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 2 回 ・ フォールド判定 : 利用回数 2 回 ・ 大量調製 : 利用回数 1 回 ・ 構造決定 : 利用回数 回
利用満足度 (複数選択不可)	<p>(<input type="radio"/>) 大いに満足、 (<input type="checkbox"/>) 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>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</p> <p>企業責任者 サーモフィッシャー株式会社</p>	

		部署 学術本部 役職 部長 氏名 田中 昭
成果の概要	実施内容	本課題において、ソバのアレルゲンコンポーネントの構造決定を進める。平成27年度 第1回公募課題としてフォールド判定まで進めており、現在のコンストラクトである程度まで解析可能であるが、解析には時間を要する可能性が高いことなどが分かった。今回、安定同位体 ^{13}C , ^{15}N の2重標識体の試料のタンパク質の帰属および構造決定に必要なデータ測定を行った。シグナルの弱いデータセットについては、測定条件を変更して追加データを測定した。また、ドメインに断片化したコンストラクトの作成・解析についても検討した。アカデミアによる上記の成果を活用して、企業においてソバのアレルゲンコンポーネントの開発を進める。
	本課題により得られた成果、当初目標と結果との比較	1) 全長のコンポーネントに対するデータ測定と解析 安定同位体 ^{13}C , ^{15}N の2重標識体の試料のタンパク質について、帰属および構造決定用のデータセットを取得した。部分的に試料の分解が進行している傾向も見られたが、概ねデータを取得できた。シグナルの非常に弱いものについては、積算回数を増やして追加データを測定した。得られたデータをもとに主鎖帰属を行い、約3分1~半分程度のアミノ残基について帰属した。残りの残基について継続して帰属を試みている。HSQC でシグナルが非常に重なっている領域があり、ディスオーダーな領域の存在が解析を困難にしている可能性が示唆された。
		2) ドメイン化したコンポーネントに対するデータ測定と解析 5種類のドメイン化したコンストラクトについて無細胞系による組換えタンパク質を作製し、すべて試料の精製および物性については良好であることを確認した。この中でアレルゲン性に重要であると考えられたドメインについて2重標識体した試料の大量調製を行った。帰属及び構造決定用に NMR 測定を行ったところ、構造決定が期待できるデータが取得できた。このデータに基づいた主鎖および側鎖の帰属は概ね順調に進んでいる。今後、構造決定に進め、アレルゲン性の関係についても解析する予定である。

	今後の展開、課題	課題終了後、継続して立体構造解析を継続して行う。公表できる部分については論文化を行う。また、アカデミアによるドメイン化および構造解析のデータを活用して、企業においてソバの臨床診断に役立つコンポーネントの開発を進める。
社会・経済への波及効果の見通し	本研究に関連する課題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を期待している。	
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： 他企業と競合する可能性があるため 延長希望期間：2年 (利用報告書提出日より最大2年)	
理研 NMR 施設利用における感想	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。	
利用周辺環境に関する希望	特になし	
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： <input type="radio"/> 未定	

<p>今後期待するその他のサービス</p>	<p>(<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)</p> <p>(<input type="radio"/>) NMR 装置利用の技術的なサポート</p> <p>(<input type="checkbox"/>) その他</p> <p>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>(http://kyoyonavi.mext.go.jp/)</p> <p>(<input type="radio"/>) 見た : (<input type="checkbox"/>) 見ていない</p> <p>感想等 :</p> <p>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。