

大阪大学蛋白質研究所先端核磁気共鳴装置群利用報告書

(トリアルユース、成果非占有)

利用企業名	味の素株式会社
利用者部署、職、氏名	イノベーション研究所 基盤技術研究所 分析基盤研究グループ 五十嵐 俊介 (研究員)
連絡先 住所	〒210-8681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1
連絡先 電話番号 Fax、E-Mail	TEL : 044-244-7145 FAX : 044-210-5872 E-mail : shunsuke_igarashi@ajinomoto.com
利用課題名	創薬に資するNMR手法の開発
利用目的・内容	巨大な蛋白質(六量体で約170KDa)について、950MHz を利用した際にシグナルがどれほど分離して観測されるかを検討したい。この知見を、巨大な蛋白質との間の相互作用解析法の開発に活用する。
利用実施時期及び期間	平成 24 年 2 月 20 日 ~ 平成 24 年 2 月 24 日  総利用日数 : 5 日  当初計画どおり・当初計画変更 (変更理由) サンプル調製が予定通りに進まなかったため、利用時期を変更した。利用日数に変更はなかった。
利用NMR装置	<input checked="" type="checkbox"/> 950 MHz (超低温プローブ、溶液) <input type="checkbox"/> 800 MHz (超低温プローブ、溶液) <input type="checkbox"/> 700 MHz (固体) <input type="checkbox"/> 600 MHz (超高感度固体 DNP) <input type="checkbox"/> 600 MHz (溶液) <input type="checkbox"/> 500 MHz (固体) <input type="checkbox"/> 500 MHz (溶液) <input type="checkbox"/> 400 MHz (溶液)

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 下さい。)	六量体で約 170KDa の酸性ホスファターゼについて重水素標識等を行い、950MHz において適している測定条件を検討した(測定時間、測定温度、蛋白質濃度等)。最適化条件下にて 1H-15N TROSY 測定を行った。また、単量体として上記と同一の機能を有する約 28KDa の酸性ホスファターゼ(相同性 65%) について、1H-15N HSQC 測定を行った。六量体と単量体の NMR スペクトルを比較した。
	本課題に より得ら れた成 果、当初 目標と結 果との比 較	170KDa 程度の蛋白質については、サブユニット間の相互作用の影響により、ブロードニングして観測されているシグナルが多数観測されたものの、2-3 割程度の NMR シグナルが分離して観測された。単量体換算で数十 uM と比較的低濃度のサンプルではあったが、数時間で十分なスペクトルが得られた。一方で、600MHz では満足なスペクトルが得られなかったため、950MHz は巨大蛋白質の解析に効果的であることを確認した。また、28KDa の蛋白質については、数十 uM であっても 1 時間ほどで満足のいくスペクトルが得られたことから、中程度の分子量の蛋白質についても効果的であった。
社会・経済への波及効果の見通し	近年、特定のアミノ酸部位を標識することで帰属せずとも蛋白質—蛋白質間相互作用解析を可能とする方法(Journal of Structural Biology, (2011) 174, 434-442)が開発された。これを 950MHz NMR にて適用することで、効率的に巨大蛋白質の相互作用解析の見通しが得られた。 上記が可能となることで、これまでは着手が容易ではなかった巨大な創薬ターゲットについても、効率的な解析を可能とし、蛋白質—蛋白質相互作用阻害剤の創出が期待される。	
成果公開時期の希望	<input checked="" type="checkbox"/> 即時公開 <input type="checkbox"/> 論文・特許公開後(最大 2 年後まで)	
利用周辺環境に関する希望		
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。