

NMR 共用プラットフォーム 最先端利用開発課題
利用報告書

(課題実施者の方へ)

課題選定委員会にて、実施内容のフィードバックを行うため、ご記入下さい。本報告書については、必要な編集・加工を行った上で NMR 共用プラットフォームのホームページにて公開を致します。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発表や資料作成等のご協力をお願いする場合があります。

課題受付番号	PF18-01-Y-016		
利用課題名	高度に重水素化したタンパク質と脂質との相互作用解析法の開発		
実施機関名	慶應義塾大学		
実施部署名	薬学部		
実施責任者管理職名・氏名	職名	教授	氏名 大澤 匡範
実施部署所在地	東京都港区芝公園 1-5-30		
本課題の概要・目的 (字数制限はありませんが 400 字～600 字以内(程度)で お書きください。)	<p>膜タンパク質や脂質結合タンパク質とその機能を調節する脂質分子との直接の相互作用を NMR により部位特異的に検出し、そのメカニズムの解明および創薬展開を目指している。タンパク質と脂質アシル基との相互作用は、NOE や交差飽和法といった 1H 核間の双極子-双極子相互作用に基づく手法での解析を試みる。タンパク質試料は、高度に重水素化され、観測対象とするメチル基のみに選択的に ^1H, ^{13}C 標識が施されている。さらに、重水をベースとしたバッファー、重水素化された界面活性剤、解析対象脂質以外の脂質は重水素化した脂質で構成されるナノディスクにより調製することにより、緩和源となる ^1H 核の存在を極力減らしている。しかし、界面活性剤で可溶化した膜タンパク質やナノディスク中の膜タンパク質などは、分子量が非常に大きく運動性が低いため、^1H 核間の双極子-双極子相互作用は亢進する。このような状況下では、原子間の距離情報を含む NOE の混合時間や交差飽和法の飽和時間が、従来確立されてきた時間が必ずしも最適でない。そこで、本課題においては、高度に重水素化したタンパク質と脂質との相互作用解析を適切に行うための NOE の混合時間や交差飽和法の飽和時間の最適化検討を行い、最適値における NOESY スペクトルの観測、交差飽和法の実施により、膜タンパク質と脂質との相互作用様式、機能調節メカニズムの解明を目指す。</p>		
利用実施時期、及び期間	20 年 月 日～20 年 月 日 総利用日数： 0 日 <input type="checkbox"/> 当初計画どおり・ <input checked="" type="checkbox"/> 当初計画変更 (変更理由) 解析対象とする界面活性剤で可溶化した膜タンパク質は、これまで界面活性剤ミセル中で二量体を形成していると考えていたが、本課題採択後に進めた試料調製の過程で、単量体と二量体の混合物であることが判明した。そのため、細胞膜上での存在状態である二量体を単離・精製する必要性が生じた。その結果、二量体の単離に		

		成功したものの、現状では収量が大きく低下し均一 2H 標識背景下でのメチル基選択的 1H13C 標識による NMR 試料の調製が現実的なコスト内ではできない状況となった。現在、引き続き収量増大に取り組んでいるところである。
利用施設 横浜市立大学	NMR装置 (該当部分に ○)	<p>利用装置</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ () 溶液 600MHz、() 溶液 700MHz、() 溶液 800MHz、 () 溶液 950MHz、() 固体 950MHz <p>利用期間 1 : 20 年 月 日 ~ 20 年 月 日 利用期間 2 : 20 年 月 日 ~ 20 年 月 日 利用期間 3 : 20 年 月 日 ~ 20 年 月 日</p>
その他の 利用施設		※4 NMR 施設以外の装置、支援などを利用した場合は記載してください
成果の 概要	<p>実施内容 (字数制限はありませんが 400 字 ~ 800 字以内(程度)でお書きください。)</p>	※申請書との整合性にご配慮ください。
	<p>本課題により得られた成果と当初目標との比較 (字数制限はありませんが 400 字 ~ 800 字以内(程度)でお書きください。)</p>	<p>本課題申請当初の試料の性状解析が不十分であり、審査・採択をいただいた後に問題が判明してしまい、制度を活用できなかったこと、誠に申し訳ございません。短期間で解決すべき問題と捉え取り組んでまいりましたが、想定以上に時間がかかり、現状目的の収量に至っておりません。今後は、十分に事前の検討を行ったうえで申請させていただくようにいたします。</p>

	<p>成果発表</p>	<p>※本課題利用による論文・学会発表・特許（出願中含む）等で本事業に関連する謝辞を記載頂いた成果について、可能な範囲で記載して下さい。</p> <p>（謝辞の記載例【英文】: The NMR experiments were performed at (機関名) of NMR Platform supported by the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (MEXT), Japan.</p> <p>【和文】: 本研究の NMR 測定は、文部科学省先端研究基盤共用促進事業「NMR 共用プラットフォーム」の(機関名)を利用しました。）</p>
	<p>今後の展開 （字数制限はありませんが 300 字～600 字以内(程度)でお書きください。）</p>	<p>※特に、本課題により得られた NMR 技術を用いた応用について</p>
	<p>社会・経済への波及効果の見通し （字数制限はありません 300 字～600 字以内(程度)でお書きください。）</p>	
	<p>利用における感想 （改善要望等を含む） 利用周辺環境に関する希望</p>	<p>※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。なお複数機関の利用の場合は、どの施設に対する感想かも明記して下さい。</p>
	<p>今後の NMR 共用プラットフォームに対する期待</p>	

成果公開延期の希望の有無	※特許取得等の理由により公開の延期を希望する場合は必ず事前に利用機関先の課題担当者にご相談ください。 () あり : () なし 「あり」の場合理由 :
その他	(上記の項目以外でご意見等お願いします。)