

平成 26 年度の SPring-8 ビームタイムを確保するため、利用申請を行った。

(倫理面への配慮)

本分担研究では、遺伝子組換え実験、動物実験並びに臨床試験等の実施はなく、倫理面における問題はなかった。

C. 研究結果

(1) タンパク質発現系の確立

トランスフェクションした HEK293S GnTI細胞の生存率は約 81.8%、LacZ 陽性細胞は約 78.8%であった。

(2) 培地中のタンパク質精製法の検討

HiTrap Chelating HP カラムを用いた場合、血清タンパク質の多くは非吸着画分として溶出された。一方、Resource Q カラムでは、血清タンパク質のほとんどが溶出画分に溶出された。

(3) SPring-8 ビームタイムの確保

SPring-8 へ申請した課題が採択され、来年度のビームタイムの利用が認められた。

D. 考察

(1) タンパク質発現系の確立

上述の結果より、生存細胞におけるトランスフェクション効率は約 96%で、本条件で問題なくトランスフェクションできると考えられる。

(2) 培地中のタンパク質精製法の検討

培地中の血清タンパク質は、HiTrap Chelating HP カラムの担体に吸着することなく、平行化バッファーで溶出され、組換えタンパク質と分離することができると考えられる。一方、Resource Q カラムでは、培地中の血清タンパク質と組換えタンパク質の分離は難しいと予想される。

E. 結論

(1) タンパク質発現系の確立

HEK293S GnTI細胞は PEI を用いた本条件で問題なくトランスフェクションできる。

(2) 培地中のタンパク質精製法の検討

培地中の組換えタンパク質を精製する際には、His タグを利用したアフィニティー精製を行った後、陰イオン交換クロマトグラフィーを用いた精製を行うのが有効である。

(3) SPring-8 ビームタイムの確保

平成 26 年度の SPring-8 ビームタイムを確保し、タンパク質の結晶を取得し次第、速やかに構造解析を進めることができる。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

特記事項なし

