平成 27 年度　全体研究開発報告書

１. 補助事業名：創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業）
２．補助事業課題名：RaPID 基盤技術が拓く構造生命科学と創薬の飛躍的加速
３．研究開発代表者：国立大学法人東京大学大学院理学系研究科化学専攻　教授　菅　裕明
４．研究開発の成果

支援事業

支援事業では、共同研究者から要望される新規標的タンパク質に対し、RaPID システムを駆使して環状特殊ペプチドリガンドを探索、濃縮された配列を決定し、化学合成して共同研究者に提供した。また、獲得した特殊ペプチドは、SPR 解析により解離定数を決定して、共同研究者に情報を提供した。

支援メニューは、下記のようになっている。

① 標的タンパク質の固定化するためのタグデザインと条件検討
② 特殊ペプチドの RaPID セレクション
③ 活性特殊ペプチドの同定と合成
④ 活性特殊ペプチドの薬剤活性の評価と高機能化（高度化事業）
⑤ 活性特殊ペプチドと標的タンパク質との共結晶化と高解像度化（高度化事業）

本支援事業に関しては、マイルストーン達成による管理は難しく、各支援案件の達成が目安となる。①～③の支援メニューに関しては、これまでに 15 件の支援を行い、そのうち３件を除く 12 件の支援についてはいずれも特殊ペプチドリガンドの獲得に成功し、共同研究者に提供した。失敗した３件の支援については、標的タンパク質自体が不安定で凝集により均一に存在しない、あるいは標的自体に構造的な不安定性要因で均一に存在しない、等の理由から活性種を濃縮できなかったと考えている。なお、成功した支援のうち、京都大学薬学部・加藤博章研究室との共同研究は論文化され 2014 年に Pro. Nat. Acad. Sci. に発表、また金沢大がん進展制御研究所・松本郁夫研究室との共同研究は 2015 年に Nature Communications に論文を発表に至ったが、平成 27 年度は大阪大蛋白質研究所・高木淳一研究室との共同研究もが大きく発展し、現在論文化を進めているところである。また、特許の作製も進めている。

また、平成 26 年度に開始した筑波大学・加藤光保研究室との共同研究については、薬剤共役体の合成によるがん細胞を選択的死滅される研究が極めて良好に進行し、革新的バイオ事業へと進展している。

高度化事業

高度化メニューは下記の通りである。

④ 活性特殊ペプチドと標的蛋白質との共結晶化と高解像度化
⑤ 活性特殊ペプチドの薬剤活性の評価と高機能化
⑥ ロボット開発によるRaPIDシステムの自動化

上記の高度化研究のうち、④と⑤に記載した研究は長期間の支援を必要とするため、支援メニューとしてではなく、高度化の一部として取り扱っている。特に（**継続**）案件については、④と⑤は必ず含まれている。上記の支援において、被支援者の依頼によって対応して測定可能な標的に関しては全てSPR解析を行った。また、被支援者の要望に応じ、特殊ペプチドの化学合成を行い、再提供も進めた。

⑥については、RaPIDシステムを運用できる２腕型ロボットを導入、様々な問題を徐々に解決しながらプログラムの微修正と運用プロトコールの作製に注力し、平成27年度中にモデルセレクション２件を達成した。人の手で並行して行った実験結果と遜色ない結果が得られている。

本技術、RaPIDシステムの向上も本事業の高度化では極めて重要である。そこで、RaPIDシステムを運用できる２腕型ロボットを導入、様々な問題を徐々に解決しながらプログラムの微修正と運用プロト

コールの作製に注力し、平成27年度中にモデルセレクション２件を達成した。人の手で並行して行った実験結果と遜色ない結果が得られている。

一方、まだ課題も残っていることが判明した。❶５回に１回程度の頻度で、回収率が激減することがあり、ロボットのクロロフォルム−フェノール抽出の不安定性が由来していることがわかった。この問題に関しては、プロトコールの変更も含め、再検討を要する。❷現在開発できているプログラムはビオチン化したタンパク質を標的としてビーズに固定化したセレクションである。現在、人の手で行うセレクションでは、ビオチン化タンパク質に加え、FcタグあるいはHisタグ（ただし8〜10Hisが理想的）化されたタンパク質にも応用可能である。したがって、様々な支援に対応するためには、これらのタグ化タンパク質への対応も可能なようにプロトコールに合わせたプログラムの開発が必要であることがわかった。