

## 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：無細胞系と細胞系の複合による高難度複合体・創薬関連タンパク質の合成・精製・結晶化パイプライン技術の高度化と支援
3. 研究開発代表者：国立研究開発法人理化学研究所横山構造生物学研究室 上席研究員 横山茂之
4. 研究開発の成果

外部研究者等に対し、解析拠点推進委員会等と協議の上、無細胞タンパク質合成技術、高分子量複合体等調製技術、翻訳後修飾タンパク質の調製技術、タンパク質試料の結晶性を改善する体系的技術をはじめとするこれまでに開発してきた要素技術を組み合わせて支援を行った。

また、ヒト由来の多数の膜貫通領域をもつ膜内在性タンパク質を主な対象として技術の高度化を行い、「動物由来脂質と界面活性剤の量比を調整して脂質二重膜の小断片に膜タンパク質を組み込む」新規の無細胞合成法（S-MF 法）を開発した。これにより、無細胞タンパク質合成法による多数回膜貫通型タンパク質の調製が著しく高度化され、脂質メソフェーズ法と組み合わせて、全ての工程を脂質二重膜環境で行えることから、界面活性剤による可溶化で構造を損なうことなく、結晶化ができることになった。細胞系生産技術の高度化としては、真核生物型の高分子複合体の高品質・大量調製のために、ピキア酵母の内在性複合体の大量調製のためのゲノムタギング法の開発を進めた。エピジェネティクスに関わる翻訳後修飾については、無細胞タンパク質合成法により翻訳段階でヒストン H4 タンパク質の 4 箇所と同時に導入し、「テトラアセチル化ヌクレオソーム」を再構成し、結晶構造解析を用いて検証を行い、様々な構造・機能解析に活用することを可能とした。さらに、人工アミノ酸の部位特異的導入技術の応用として、導入部位の選択がより適切に行える新世代の抗体薬物複合体（ADC）作製法、セレノシステインを複数含むタンパク質の生産法の高度化を行なった。