

平成 27 年度 全体研究開発報告書

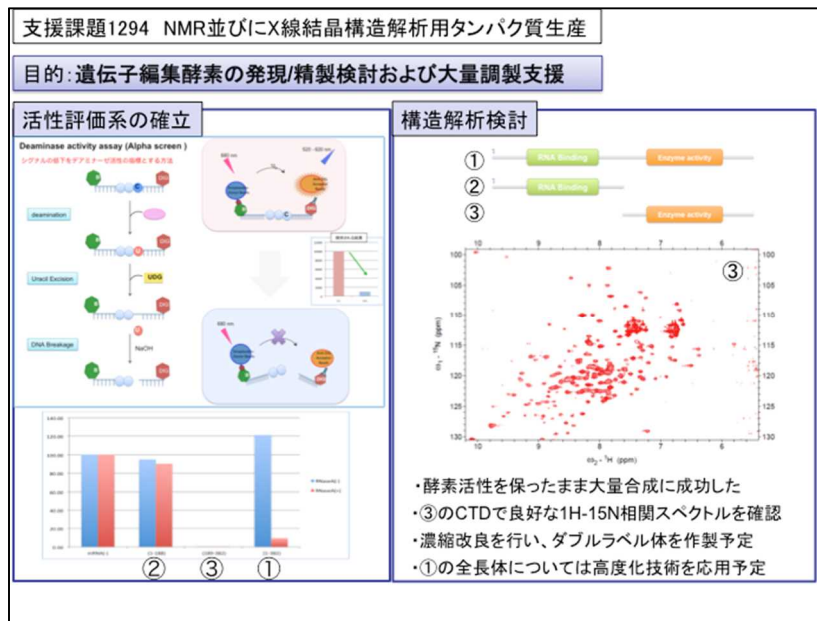
1. 補助事業名：創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業
(創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業)
2. 補助事業課題名：構造解析用核内タンパク質等の生産と評価
(小麦胚芽無細胞発現系を用いた核内タンパク質等の生産と供給)
3. 研究開発代表者：株式会社セルフリーサイエンス 執行役員／研究開発統括部長 森下 了
4. 研究開発の成果

真核生物の核内タンパク質や天然変性領域を含む細胞質タンパク質を対象に NMR や X 線結晶構造解析に適したタンパク質の生産と性状解析を行う為、株式会社セルフリーサイエンスでは、無細胞合成用の小麦胚芽抽出液製造技術およびタンパク質合成技術を用いて、構造解析可能なタンパク質の安定生産を実現させ、達成目標として核内タンパク質や天然変性領域を含む細胞質タンパク質の生産支援と、品質向上の為の翻訳後修飾技術開発および複合体調製法開発の高度化を行った。



1) 小麦胚芽無細胞発現技術を用いたタンパク質生産支援

真核細胞型である小麦胚芽無細胞発現系の強みと自社オリジナル自動合成機を活かし、安定的なタンパク質の生産/供給を可能にする支援体制を構築する。平成 27 年度は、新たに採択された[課題 1294]について、ゲノム変異導入タンパク質の NMR/X 線結晶構造解析用タンパク質生産について支援を進めた。酵素活性評価系を確立させ、阻害剤スクリーニングからいくつか



の候補化合物を得た。これらの結果を基に、活性を保ちつつ良好なスペクトル (HSQC) を得たサンプルの作製に成功した。また代表機関と連携し、難発現タンパク質である CHD7 のクロモドメインの発現 (4 種類) に成功した。精製方法を検討することでそれぞれ解析に必要な十分量のタンパク質を供給し、DNA 結合能を確認することが出来た。また他系では全く発現しなかった Raf2 タンパク質の RFTS ドメインの発現にも成功した。

2) 複合体調製技術の開発と高度化

当社独自技術である約 2 万種類のヒトタンパク質を搭載したプロテインアクティブアレイ (PAA) を活用し、天然変性領域を持つタンパク質と相互作用する未知のタンパク質を探索し、不安定な標的タンパク質を複合体として安定調製させる技術開発を目指す。平成 27 年度は、核内タンパクモデルでの相互作用検出系開発では、代表機関と連携し核内タンパク質 p53TAD と p62PH を標的として用いて、適切な検出用タグの組み合わせ等を検討した。代表機関で確認した既知結合タンパク質を搭載したテストアレイを作製し、至適条件を用いて相互作用試験検討を行った結果、アレイ上で特異的な相互作用の検出を認めることが出来た。また 2 万タンパク質を用いた相互作用解析では、カルモジュリン結合タンパク質のスクリーニング結果を論文化することが出来た。

