

研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム
本格研究開発ステージ ハイリスク挑戦タイプ 事後評価報告書

| | |
|------------|-----------------------------|
| 研究開発課題名 | : 新規無細胞系を用いる生体膜蛋白質合成システムの開発 |
| プロジェクトリーダー | : (株)島津製作所 |
| 所属機関 | : (株)島津製作所 |
| 研究責任者 | : 魚住 信之(東北大学) |

1. 研究開発の目的

正しく折りたたまれ、高い効率で正しい構造を持った機能性を有する膜蛋白質を合成することが可能となる昆虫培養細胞由来無細胞翻訳・膜蛋白質組込み系の開発を行う。昆虫培養細胞由来無細胞系は、ロット間差が小さくその安定供給が可能であり、生物の犠牲を経ないという特長がある。本システムによる膜蛋白質の安定生産手法の確立を目指すと共に、無細胞系の特長である非天然アミノ酸の導入による人工機能性膜蛋白質の合成効率向上を図る。また、製品化する上で重要となるアプリケーションの開発を行う。さらに、昆虫培養細胞由来無細胞系+昆虫膜による非天然アミノ酸導入を可能としたキットの販売および受託合成サービスの展開を目指す。

2. 研究開発の概要

①成果

原核生物、真核生物由来の様々な膜蛋白質、膜組み込み様式の異なる 2 種類(トランスロコン系とGET系)について検討したところ、良好な合成を確認した。骨格が小さい非天然アミノ酸は、12 回膜貫通型膜蛋白質の内部、尾部に対しても効率的に導入される事が明らかとなった。また、アンバーコドン(TAG)と同様に4塩基コドン(CG GG)を利用して2色同時導入に成功した。合成した膜蛋白質を遠心分離法によって回収することにより、ゲル濾過法と比較して操作時間において約5分の1となり、回収量については約2倍となった。合成した膜蛋白質のリポソーム再構成法を実施して、本システムにおいて機能活性を有する膜蛋白質の調製が可能であることを示した。

| 研究開発目標 | 達成度 |
|-----------------------------|--|
| ①膜蛋白質の多検体合成試験 | ① 1 回膜貫通蛋白質1個, 6 回膜貫通蛋白質 7 個, 10 回膜貫通蛋白質 1 個, 12 回膜貫通蛋白質 1 個および Tail-anchor 型膜蛋白質 2 個の合計 12 種類の膜蛋白質に関して合成に成功した。 ② 膜蛋白質の任意の部位への非天然アミノ酸の導入, またその導入効率の検討を行い, アンバーコドン導入法と4塩基導入法が可能であることを確認した。 ③ ゲル濾過法よりも迅速で簡便な, 遠心分離法を開発した。 ④ 無細胞系で合成した膜蛋白質をリポソームに移行させることを実証した。 ⑤ 膜蛋白質の機能解析システムとして利用可能であることを示した。 |
| ②非天然アミノ酸導入の多検体試験 | |
| ③合成した膜蛋白質を迅速かつ高効率で精製する方法の確立 | |
| ④リポソーム再構成法の実用化 | |
| ⑤合成した膜蛋白質利用法のアプリケーションの例示 | |

②今後の展開

膜蛋白質組込みに関わる因子群を導入した昆虫培養細胞の改良を図ることで、膜蛋白質合成能力を強化した系を開発したい。これは、培養細胞を用いる本システムのみに適応できる手段であり、従来のウサギ・犬から調製される無細胞系では不可能である。また有用なアプリケーションとして、1分子イメージングへの基本データの取得に成功したが、さらにこの1分子イメージングを利用した膜蛋白質の機能解析・動態観察に取り組みたい。

3. 総合所見

目標通りの成果が得られ、イノベーション創出の可能性がある。

産学が適切に協働し、性質の異なる12種類の膜タンパク質の合成に成功しており、初期の目標を十分達成している。また、商品イメージが明確であり、それに対応する課題の認識も適切でクリアしており、他の競合系と比較しても優れている。医学的応用に期待がもてる成果と考える。