

解析拠点
生産領域

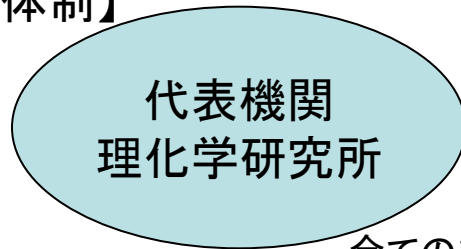
課題名 無細胞系と細胞系の複合による高難度複合体・創薬関連タンパク質の
合成・精製・結晶化パイプライン技術の高度化と支援

独立行政法人理化学研究所(横山茂之)

【課題概要】

構造解析を専門としない研究者を含むライフサイエンス研究者の構造解析研究を広く「支援」するために、タンパク質の発現、精製、結晶化、性状評価等に関する高度な技術等を提供することを目的とする。創薬関連タンパク質や、ヒト由来の複数種のサブユニットからなる高分子量複合体、翻訳後修飾(糖鎖や脂質の付加、アセチル化、メチル化、リン酸化等)をもつタンパク質等の高難度な標的タンパク質も含み、幅広い支援を実施する。このため、理化学研究所が保有する技術、設備を積極的に活用し、これまでに開発してきた様々な要素技術を集積して、さらに高度化を行う。それらのタンパク質試料の構造解析への適合性を、その性状と結晶性の観点で評価し、発現・精製のステップにフィードバックして改善する。これらの技術を、「生産パイプライン」として整備し、外部研究者等のタンパク質生産・構造解析研究を支援する。

【運営体制】



全ての業務を担当

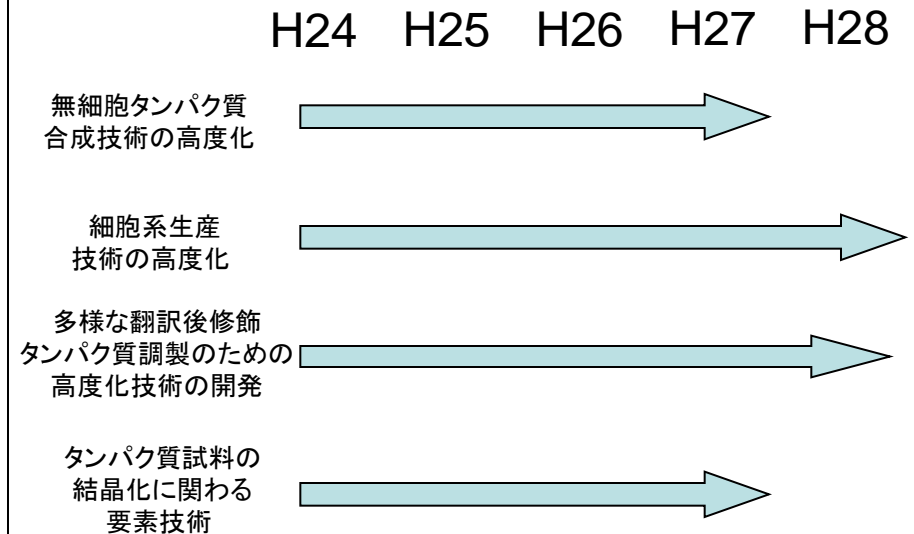
【連絡先】

理化学研究所
生命分子システム基盤研究領域
横山茂之 Tel:045-503-9196
e-mail:yokoyama@riken.jp

【支援に供する技術】

- ・無細胞合成系と細胞発現系の複合生産技術
- ・膜タンパク質試料調製・結晶化技術
- ・高分子量複合体調製・結晶化技術
- ・非天然型アミノ酸導入技術
- ・標識試料調製技術
- ・高付加価値バインダー創生技術 等

【高度化研究】



* 高度化された技術は、
順次支援のために取り入れる

【これまでの研究実績と創薬等PFにおける事業内容】

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

タンパク質試料の調製

- ・ 試料調製の質的・量的改良 (無細胞合成/翻訳技術)
- ・ 各種翻訳後修飾の導入 (酵素/アナログ/遺伝的導入)
- ・ 高難度複合体の調製 (共発現/再構成/内在複合体)
- ・ 膜タンパク質の調製

性状と結晶性の評価

- ・ 試料の性状評価と改善 (物理的性状解析/添加剤)
- ・ 試料の結晶性の評価と改善 (多検体結晶化/プレート解析)
- ・ 試料評価パイプラインの整備 (物性/結晶性のフィードバック)

立体構造と機能の解明

- ・ 初期結晶化段階の新規技術 (物理エネルギー/結合因子)
- ・ 結晶成長段階の新規技術 (脂質メソフェーズ法/対流抑制)
- ・ 結晶解析パイプラインの整備 (解析とのシームレスな連携)

パイプラインを支える要素技術

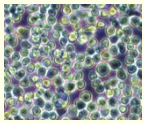
複合体

- ・ 構成成分の同定 (質量分析)
- ・ 形成の最適条件の探索
- ・ 複合体の安定化
- ・ 天然状態との比較
- ・ 立体構造決定



動物・昆虫細胞発現系

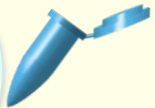
- ・ 細胞株整備
- ・ 高発現系整備
- ・ 大量培養
- ・ 少量多検体培養



無細胞合成技術

大腸菌・ヒト由来等

- ・ 補助因子の添加
- ・ 糖鎖などの翻訳後修飾



自動化・微量化 大規模 スクリーニング

発現・精製・結晶化最適条件の探索



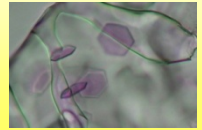
- ・ 熱融解測定
- ・ NMR測定
- ・ 立体構造解析

分子標識技術

・ 構造解析のための分子標識

膜タンパク質

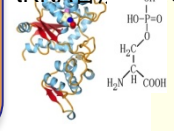
- ・ 膜タンパク質生産・結晶化技術
- ・ 無細胞タンパク質合成系等
- ・ 脂質メソフェーズ法等
- ・ 立体構造解析



非天然型 アミノ酸技術

- ・ 蛍光標識技術
- ・ クロスリンク技術
- ・ 修飾アミノ酸導入

非天然型アミノ酸の開発
発変型アミノアシル
tRNA合成酵素の開発



高親和性 結合因子技術

・ 構造解析のための高親和性結合因子