構造解析ユニット

補助事業代表者（所属・職名）
澤崎　達也（愛媛大学プロテオサイエンスセンター・教授）

コムギ無細胞系とAirIDを基盤とした複合体生産・探索・解析技術の支援と高度化

補助事業分担者（所属・職名）
宮川　拓也（京都大学大学院生命科学研究科・准教授）、小澤　龍彦（富山大学 工学部・教授）、竹田　浩之（愛媛大学プロテオサイエンスセンター・准教授）

概要

我々が実用化した強力なタンパク質生産技術である**コムギ無細胞タンパク質合成系**は、従来の大腸菌などの生細胞発現系では発現が困難なタンパク質の生産が可能である。またコムギ無細胞系は、多検体タンパク質合成を得意とし、我々は、既に28,000種類のヒトタンパク質の合成に成功し、ヒトプロテインアレイとして、相互作用タンパク質や薬剤標的を同定できる技術開発を進めてきた。さらに、AlphaScreen技術と組み合わせることで、コムギ無細胞系を基盤としたPPI阻害薬や転写因子の阻害剤探索などの多様な薬剤スクリーニング系を構築してきた。そこで、**コムギ無細胞タンパク質合成系**を用いた可溶性タンパク質、膜タンパク質、タンパク質複合体の生産および薬剤探索を支援する。さらに、細胞内や生体内で近傍タンパク質をビオチン標識できる**AirID酵素**を開発してきたことから、AirIDを基盤とした細胞内・生体内相互作用タンパク質同定などの**複合体解析支援**、ならびに結晶化・クライオEMによる構造解析を支援する。さらに、これまでのBINDS等で多くの支援実績がある、他機関では作製が困難なヒトやウサギのモノクローナル抗体の取得・改変を中心とした**抗体の単離及び改変支援**を行う。

支援の内容

（１）コムギ無細胞タンパク質合成支援（タンパク質提供）
国立大学法人愛媛大学プロテオサイエンスセンターの自動化タンパク質合成装置等を用いて、可溶性タンパク質、薬剤探索用、膜タンパク質および複合体タンパク質の生産支援を行う。

（２）複合体解析支援
2万8千種規模のヒトタンパク質をアレイ化したヒトプロテインアレイを用いて相互作用タンパク質を探索する技術、および近位依存性ビオチン標識酵素AirIDを用いて試験管内、細胞内、生体（個体）内における相互作用を探索する技術を支援に提供する。さらに結晶化やクライオEM解析を用いた複合体構造解析の支援を行う。

（３）抗体の単離及び改変支援
国立大学法人富山大学において、単一の抗体産生細胞を単離できる独自開発のISAAC技術を基盤とした抗体の単離や、ウサギ抗体のヒト化、AirID融合などの抗体改変を支援する。

支援の成果

アサガオの花寿命を伸ばす薬剤の開発

【国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構　渋谷 健市 先生】

創薬機構ライブラリーからスクリーニングしたアサガオ花弁の老化誘導転写因子EPH1の阻害剤（Everlastin）を開発した結果、翌日の朝日をもう一度浴びることができるアサガオ花の寿命を延ばすことに世界で初めて成功した（**図１**, Nature Plants 2024）。

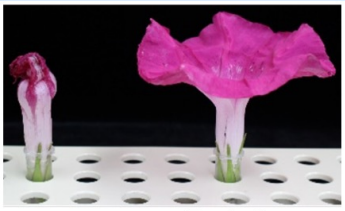


図１　Everlastinによる花寿命の延長

新型コロナウイルスに対する抗体作製と、変異株に対応した抗体改変

【富山大学　仁井見 英樹 先生】

新型コロナ感染患者から単離されたSARS-CoV-2のS-タンパク質を対象にした中和抗体UT28Kの構造解析データを元に抗原認識領域のin silicoで設計を行い、新たな変異株も認識する中和抗体作製に成功した（**図３**, mAbs 2022, Structure 2024）。

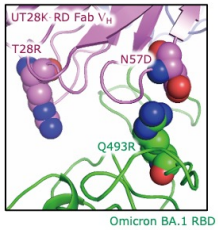


図３　抗体/抗原複合体の立体構造解析

ヒトプロテインアレイを用いた相互作用パートナー探索

【横浜市立大　石上 友章 先生】

アンジオテンシノーゲン遺伝子の制御に関わる転写因子の機能解明を目指して、プロテインアレイによる相互作用解析を行った。8,300種のヒトプロテインアレイを用いた解析により、転写因子特異的な相互作用パートナーを複数見出した（**図５**）。

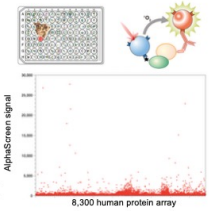


図５　プロテインアレイを用いた転写因子の相互作用パートナー解析

全脳組織3Dイメージングのための抗GFP VHH生産

【千葉大学　坂本 寛和 先生】

脳に寄生した細胞内寄生性真核生物の動態解析のため、GFPの蛍光強度の増幅特性を有する抗GFP VHH抗体が大量に必要であった。大腸菌発現と高圧リフォールディング技術等の活用により、短期間で100 mg以上の高純度試料を供給した（**図７**）。

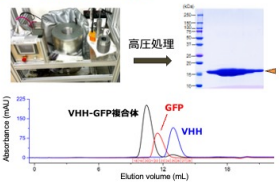


図７　蛍光強度増幅型抗GFP-VHHの大量調製

植物の雄原細胞分化における協調的DNA認識機構の解析

【京都大学　山岡 尚平 先生】

植物は、減数分裂で生じた単相(*n*)の細胞から、多細胞体である「配偶体」をつくり、その中から生殖細胞を分化させるという、ヒトなどの動物とは異なる有性生殖の様式をもつ。ほぼ全ての植物がもつ２つの転写因子が相互作用し、生殖細胞の分化のために協調して働くことを明らかにした（**図９**, Curr Biol 2023）。

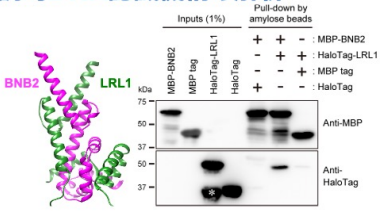


図９　BNB-LRL相互作用と複合体モデル

エムポックスウイルス（MPXV）の抗原検査キットの開発

【富山大学・仁井見 英樹 先生】

2022年の流行以降に世界的に発生したエムポックスウイルス（MPXV）に対処するため、ウイルスの拡散を防止・制御に向けたMPXV感染者を特定し隔離するための迅速かつ正確な診断キットの開発を行った（**図２**, J. Virological Methods 2025）。

今回作製した抗原検査キットは、Ct値が25未満の検体に対して感度87%、特異度100%を示した。

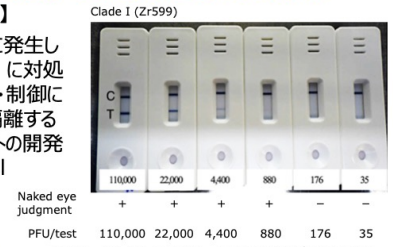


図２　ウイルスを使った検出感度の評価

高特異性Claudin6抗体の創生

【大阪大学 薬学研究科 近藤 昌夫 先生】

がんの有望なターゲットであるCLDN6の細胞外ループに対するモノクローナル抗体の作製を支援した。無細胞合成技術を用いてヒト/マウスキメラCLDN6プロテオリポソームを生産し、これを免疫抗原として用いてマウスモノクローナル抗体を作製した。非常に相同性が高いCLDN6とCLDN9を識別できる、高特異性抗体が得られた（**図４**）。

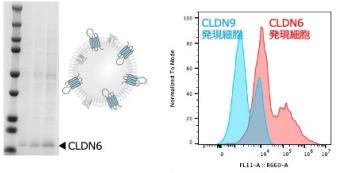


図７　キメラCLDN6プロテオリポソームの無細胞合成．取得したモノクローナル抗体のフローサイトメトリー

ヒトプロテインアレイによる肺繊維化ペプチドの作用機構の解明

【 三重大学　安間 太郎 先生】

肺胞上皮細胞の繊維化や細胞死を誘導するペプチド、コリシンの作用機序の解析を支援した。9000種類のヒトプロテインアレイを用いてコリシンに強く相互作用するタンパク質を探索し、プロテアソームやタンパク質分解に関与する複数の因子を同定。コリシンがタンパク質分解の異常亢進を誘導していることを明らかにした。

（**図６**, Nature Commun 2026）本支援の成果はR8年度 AMED 難治性疾患実用化研究事業の採択に貢献した。

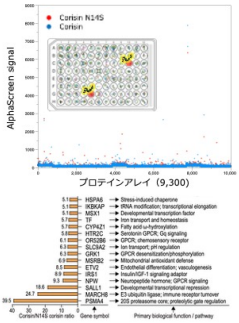


図６　プロテインアレイを用いたコリシンの網羅的相互作用解析

根寄生雑草防除のための新奇な発芽阻害剤の作用機序解明

【明治大学　瀬戸 義哉 先生】

中東・北アフリカを中心に深刻な農業被害をもたらしている根寄生雑草は、宿主作物の根から分泌されるストリゴラクトン（SL）によって発芽が誘導されることが知られており、その受容体を標的とした防除技術の開発が進められている。*Striga hermonthica*のSL依存的な発芽に必須な受容体を選択的に阻害する化合物の作用機序が明らかになり、選択性の構造基盤の理解に加え、さらに効率的に作用する化合物への構造展開が可能になった（**図１０**, Precis Chem 2026）。

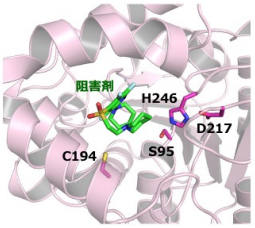


図１０　SL受容体と選択的阻害剤の複合体構造

COIの開示：本発表に関連して開示すべき利益相反はありません。