構造解析ユニット

補助事業代表者（所属・職名）
村田　武士（千葉大学大学院理学研究院・教授）

疾病関連膜タンパク質の生産および構造解析支援

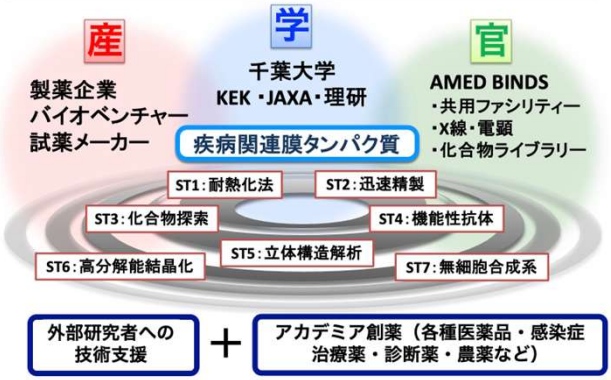
補助事業分担者（所属・職名）
川崎　政人（高エネルギー加速器研究機構（KEK）物質構造科学研究所・准教授）、岩田　茂美（宇宙航空研究開発機構（JAXA）有人宇宙技術部門・主任研究開発員）、白水　美香子（理化学研究所（RIKEN）生命医科学研究センター・チームディレクター）

本発表に関して開示すべき利益相反（COI）はありません。

概要

本事業では、生命活動に欠かせない膜タンパク質を対象に、試料の作製から構造解析までを一貫して支援する7つの技術（**ST1**～**ST7**）を整備し、全国の研究者に広く提供しています（右図）。膜タンパク質は薬の約60%が作用する重要な分子ですが、ヒト由来のものは不安定で壊れやすく、安定した試料を作ることが難しいという課題がありました。千葉大学ではこの課題を克服するため、独自の理論をもとに膜タンパク質を安定化させる「**耐熱化設計技術（ST1）**」を開発し、これまでに多くの膜タンパク質の改良に成功しています。また、独自の抗体を利用した**迅速精製技術（ST2）**や、薬剤候補化合物との**結合を評価する技術（ST3）**、標的膜タンパク質の立体構造を認識する**機能性抗体作製技術（ST4）**、X線結晶構造解析およびクライオ電子顕微鏡による**構造解析技術（ST5**：KEKとの連携）を発展させてきました。さらに、JAXAおよび理研と連携し、**高分解能結晶化技術（ST6）**や**無細胞合成技術（ST7）**も導入することで、多様な研究ニーズに応えられる基盤技術を構築しています（図1）。これらの技術を全国の研究者に広く公開し、創薬研究における課題であった「膜タンパク質の生産と構造解析の難しさ」を克服することで、アカデミアから新しい医薬品を生み出す体制の確立を目指しています。

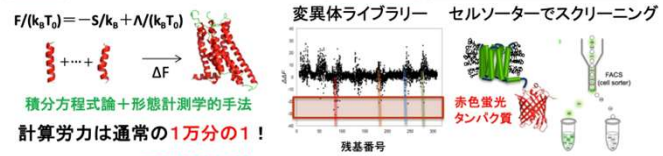
本事業の概念図



耐熱化設計技術（ST1）の支援と高度化　千葉大

支援合計数　8件（うち支援中　2件）

PDIS　独自の統合理論計算法　＋　現BINDS　進化分子工学的手法



計算労力は通常の1万分の1！
立体構造既知　5割の的中率！
迅速・高効率に耐熱化変異体を創出！

支援内容　理論予測計算、耐熱化変異体の同定

H1受容体やOX１受容体など7種類の受容体の耐熱化設計を支援し、安定性の向上に貢献

高度化　**超高速結合自由エネルギー計算手法の開発**

結合自由エネルギー $\Delta G = \Delta E + \Delta\mu - T\Delta S_c$

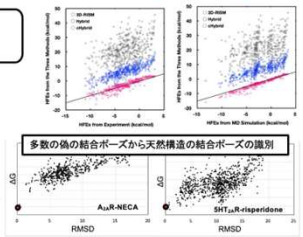
ΔE:分子内エネルギー変化、Δμ:水和自由エネルギー変化、ΔS_c:構造エントロピー変化

高精度　精密な計算手法であるFEP法に匹敵
超高速　1構造当たり1–2秒；FEP法より5万倍高速

- 各種成分に分割した解析が可能

$$\Delta G = \Delta E_B + \Delta E_{vdW} + \Delta E_{ES} + \Delta\varepsilon_{VH,1} - T\Delta S_{VH,1} + \Delta\varepsilon_{VH,2,vdW} + \Delta\varepsilon_{VH,2,ES} - T\Delta S_{VH,2,ES} - T\Delta S_c$$

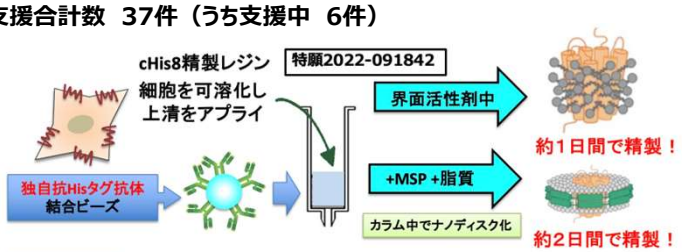
- タンパク質やリガンドの大きさ・形状・電荷によらず適用可能



特願2023-221583

迅速精製技術（ST2）の支援と高度化　千葉大

支援合計数　37件（うち支援中　6件）



支援内容　標的膜タンパク質の発現・精製（ナノディスク化）

抗体レジンを活用した迅速精製・ナノディスク化技術を確立し、多くの研究者に提供・支援した。

高度化

- 支援結果を踏まえてフィードバックを行い、各種条件およびプロトコルを最適化
- 発現条件の最適化
- 脂質の種類の最適化
- MSPの精製法の再検討
- ナノディスク化条件の最適化
- 3Cプロテアーゼ処理の最適化

→
- 発現量の向上
- 精製効率の向上
- 純度の向上

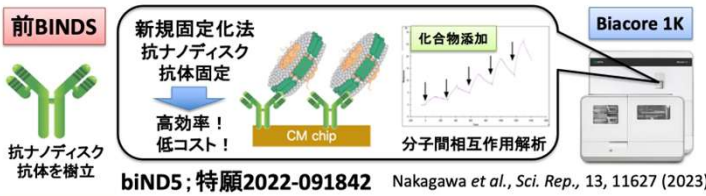
DNA Encoded Library（DEL）スクリーニング手法の開発
東大創薬機構と連携し、DELスクリーニングに適した標的膜タンパク質の精製・調製基盤を構築中。

- DEL選抜に適したタグ設計、固定化条件、界面活性剤・脂質環境の最適化
- 標的タンパク質の活性・安定性・ロット間再現性の評価等

結合を評価する技術（ST3）の支援と高度化　千葉大

支援合計数　32件（うち支援中　5件）

前BINDS



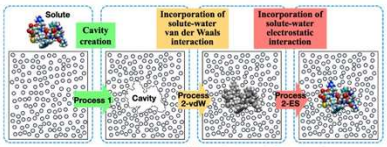
biND5；特願2022-091842　Nakagawa *et al.*, *Sci. Rep.*, 13, 11627 (2023)

支援内容　結合化合物（抗体）の評価やスクリーニング

表面プラズモン共鳴法による薬剤候補化合物の結合評価や抗体親和性測定を多数支援した。

高度化　超高速結合自由エネルギー計算手法を用いて、膜タンパク質に結合する化合物を予測するシステムを構築

構造情報と結合ポケットの同定
↓
ドッキング計算による結合フォーム探索
↓
本手法によるドッキングランキング補正
↓
精密評価と実験検証



3D-RISM ＋形態計測学的表現

Hayashi T., *et al*. J. Mol. Liq. 2024
Hayashi T., *et al*. J. Phys. Chem. B 2026