

## 【実施方法】

ネットワークを構成するタンパク質群に幅広く対応するため、特に巨大複合体、膜タンパク質を含む高難度タンパク質の試料調製のための要素技術(無細胞タンパク質合成技術、動物細胞発現技術、結晶化技術等)を高度化  
 構造・機能解析への適合性評価技術等の高度化と適合性評価による試料評価やフィードバック  
 システム化によるタンパク質発現ライブラリーを構築・整備

## 【達成目標】

重要な疾患に関わるネットワーク、基本的な生命現象に関わるネットワーク等を構成するタンパク質群を対象として、立体構造解析及び作用機序解明に有用なタンパク質試料(巨大複合体、修飾タンパク質、膜タンパク質を含む)を生産するための高度化された技術基盤を確立

## 【期待される成果】

重要な疾患、基本的な生命現象等を担うタンパク質群について、様々な活性状態での立体構造の解明  
 活性制御化合物探索と検証のための試料生産を可能にすることにより、動的なネットワーク作用機序の解明に貢献

## ターゲットとするネットワーク群を構成するタンパク質群の生産の「タンパク質発現ライブラリー」



## 多段階スクリーニング

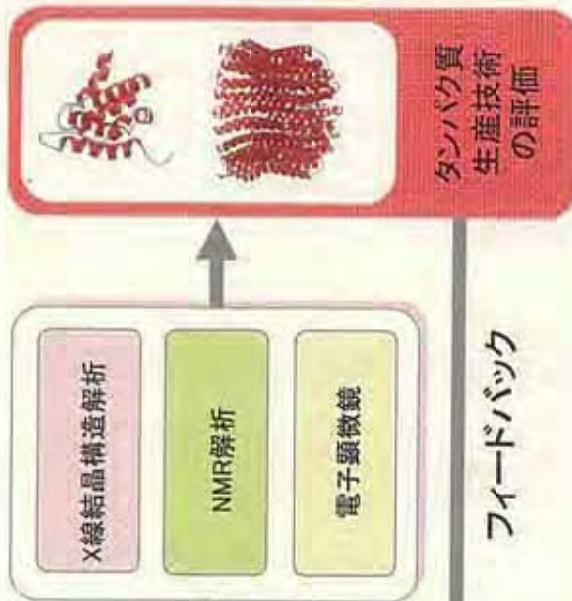
① 発現・合成スクリーニング  
 高難度タンパク質の問題: 探索すべき条件が拡大  
**高度化のポイント:**  
 膨大な合成条件に対応するハイスループットなタンパク質合成  
 (無細胞と動物細胞タンパク質合成系の組合せ)

② 試料品質スクリーニング  
 高難度タンパク質の問題: 高品質試料が得にくい  
**高度化のポイント:**  
 試料品質(立体構造、修飾等)の迅速分析により、高難度タンパク質でも高品質試料の合成条件を探索

③ 大量合成・精製 / 結晶化条件のスクリーニング  
 高難度タンパク質の問題: 精製・結晶化条件の拡大  
**高度化のポイント:**  
 大量合成・精製・結晶化の過程をロボット化

自動化された生産システムで、  
 多条件を平行高速処理  
 → 優れた試料再現性

## ターゲットタンパク質群に含まれる高難度タンパク質の例





# 技術・研究開発 — 「解析」

## 【実施方法】

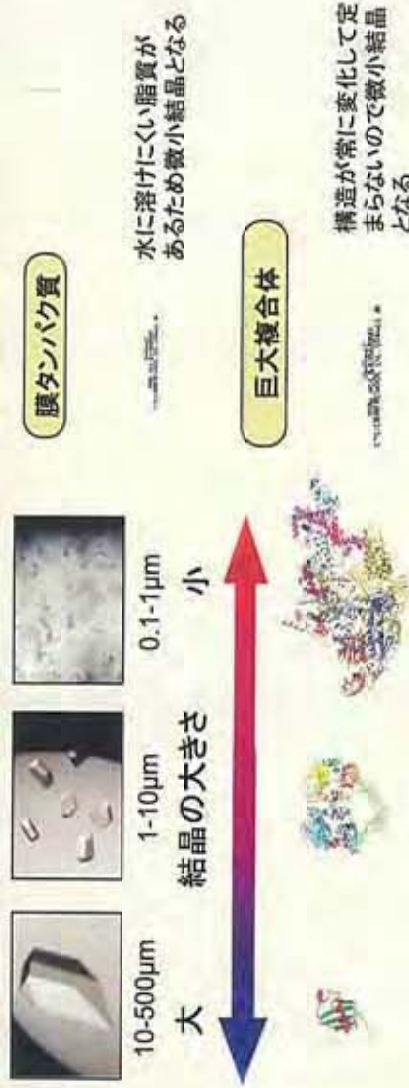
巨大複合体、膜タンパク質を含む高難度タンパク質にも対応可能にするため、微小結晶しか得られない場合でもX線回折データを収集できるように放射光技術を高度化  
 結晶化が不可能なタンパク質の解析のためのNMR技術等を高度化

## 【達成目標】

重要な疾患に関わるネットワーク、基本的な生命現象に関わるネットワークなどを構成するタンパク質群を対象として、特に高難度タンパク質についても立体構造解析を可能にする技術基盤を確立

## 【期待される成果】

重要な疾患、基本的な生命現象等を担うタンパク質群の立体構造及び相互作用機構の解明を可能にすることにより、原子レベルの分解能でのネットワーク作用機序解明に貢献



ターゲットタンパク質[巨大複合体(タンパク質)タンパク質、タンパク質(核酸等)、膜タンパク質等を含む]の多くで、微小結晶しか得られない。

21

## Spring-8

高エネルギー高輝度X線光源を活用

現状

構造解析には数十µm以上の結晶が必要

目標

高難度タンパク質の微小結晶の構造解析

## PF

低エネルギー長波長X線光源を活用

現状

セレン等で置換したタンパク質試料を用いる

目標

置換しない試料での位相決定、構造解析

## NMR

高度な安定同位体標識

現状

高分子量タンパク質の高精度解析は困難

目標

結晶化不可能なタンパク質の構造解析



# 技術・研究開発 — 「制御」

## 【実施方法】

- ネットワークの作用機序の解明における必要なタンパク質の立体構造情報を活用して、論理的化合物ライブラリーを構築
- タンパク質制御化合物のスクリーニング及び高機能化のための技術基盤を開発

## 【達成目標】

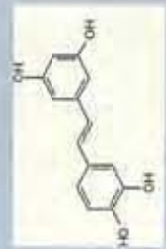
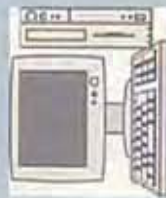
ネットワーク等を構成するタンパク質群を対象として、立体構造に基づいて活性制御化合物を創出するための技術基盤を確立

## 【期待される成果】

重要な疾患、基本的な生命現象等を担うタンパク質群について、機能解明のための活性制御化合物の創出を可能にすることにより、ネットワークの作用機序解明に貢献

## 1. 化合物ライブラリー基盤整備 (制御化合物候補を予測、収集する)

- 1) Generalライブラリー:  
ドラッグライクな全化合物を代表する化合物
- 2) Focusedライブラリー:  
重要なターゲットを制御する化合物



## 2. スクリーニングシステム基盤整備 (構造情報に基づく、制御化合物探索基盤)

- 1) インシリコスクリーニング基盤開発:  
タンパク質の構造情報に基づいて結合化合物を予測
- 2) ウェットスクリーニング基盤開発:  
結合や活性制御を指標に予測化合物を検証



## 3. ヒット/リード化合物の最適化 (構造情報を活用した、制御化合物高機能化)

- 1) 毒性試験技術: 安全な制御
- 2) 改良化合物合成技術: 特異的な制御



活性制御化合物の創出  
ネットワークの解明の促進