

# 多種類のタンパク質をDNAから 短時間・安価に合成します

---



京都工芸繊維大学 応用生物学系

助教 長岡 純治

- カイコガ抽出液 (絹糸腺 = 絹をつくる器官) を含む,
- 転写・翻訳共役型の無細胞タンパク質合成反応液である。
- 前項の反応液においてタンパク質合成量を高めるDNA配列 (Acute bee paralysis virus, ABPV IGR-IRES) を利用する。

安価で、規模が容易に変化させられ、かつ簡便・迅速にタンパク質が合成できる動物由来の合成系

## 試験管内での反応

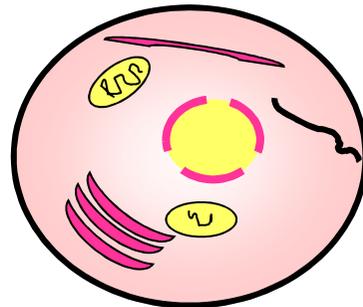
- 化学合成
- 無細胞タンパク質合成系

## 生細胞に立脚

- 微生物での発現  
大腸菌 枯草菌 放線菌 出芽酵母
- 昆虫細胞での発現
- 動物細胞での発現
- 植物細胞での発現

# 無細胞タンパク質合成系

生細胞

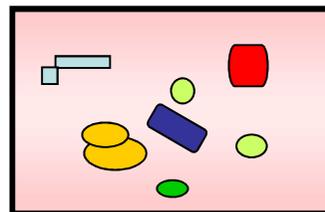


タンパク質合成が盛んな細胞を選択

翻訳反応に必要な因子が  
多く含まれる可能性が高い

破碎

細胞抽出液

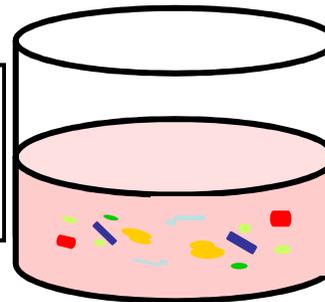


翻訳反応に必要な因子を  
細胞抽出液として上手く取り出す

混合

● ATP, Mg, アミノ酸など不足物,  
壊れやすいもの

無細胞タンパク質  
合成系



試験管内で翻訳系を再構築

● 任意の遺伝子 (RNA) ← DNA

合成

## 従来の生細胞利用技術との相違点

- 細胞の培養が不要
- ハイスループット化が容易
- 細胞毒性のあるタンパク質合成が可能
- 非天然型アミノ酸の導入が容易
- 組換え遺伝子実験の該当しない
- 精製タンパク質に混入する物質が予測できる

創薬研究などの初期検討や  
標準品の（緊急）合成に期待できる

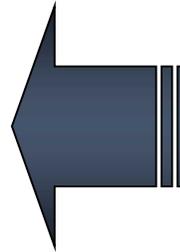
# 新技術の特徴・従来技術との比較

抽出液	生産量	糖鎖修飾	販売価格 ( /mL)
<b>&lt;原核生物系&gt;</b>			
大腸菌	◎	×	<b>41,000円</b>
<b>&lt;真核生物系&gt;</b>			
小麦胚芽 (植物)	○ or ◎	△	<b>40,000円</b>
ウサギ網状赤血球 (動物)	△	○	<b>34,000円</b>
昆虫培養細胞 (昆虫)	○~ △	○ (昆虫型)	<b>48,000円</b>

**CMM** : 犬すい臓ミクロソーム膜

## 商業的な側面

- 材料費が安い
- 材料の安定供給
- 安全性への理解



- 養蚕農家
- 昆虫工場



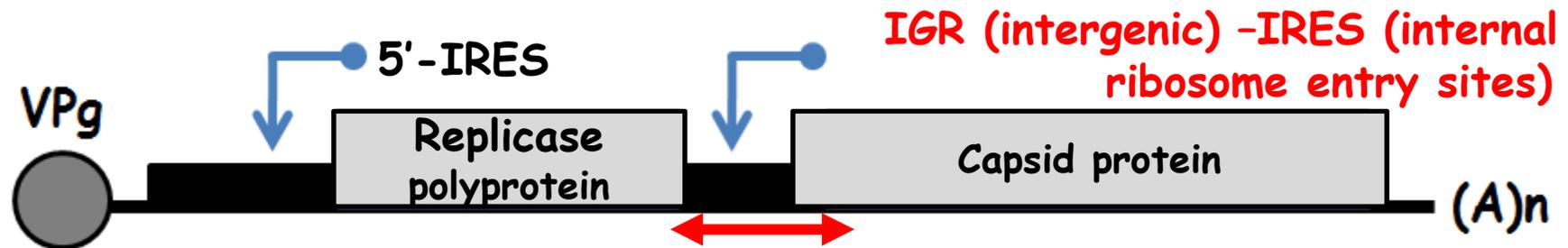
## 技術（学術）的な側面

- 高効率な合成
- 合成に必須な因子の効率の良い所得
- 翻訳後修飾の可能性
- タンパク質合成に立脚した  
新規実験系の確立



- 絹タンパク質の高生産
- バキュロウイルス-昆虫細胞  
タンパク質高発現系

*Dicistroviridae* : 主に昆虫を宿主とする一本鎖RNA ウイルス



[Type I に属する IGR-IRES をもつ *Dicistroviridae*]

*Plautia stali* intestine virus (PSIV), Cricket paralysis virus (CrPV)

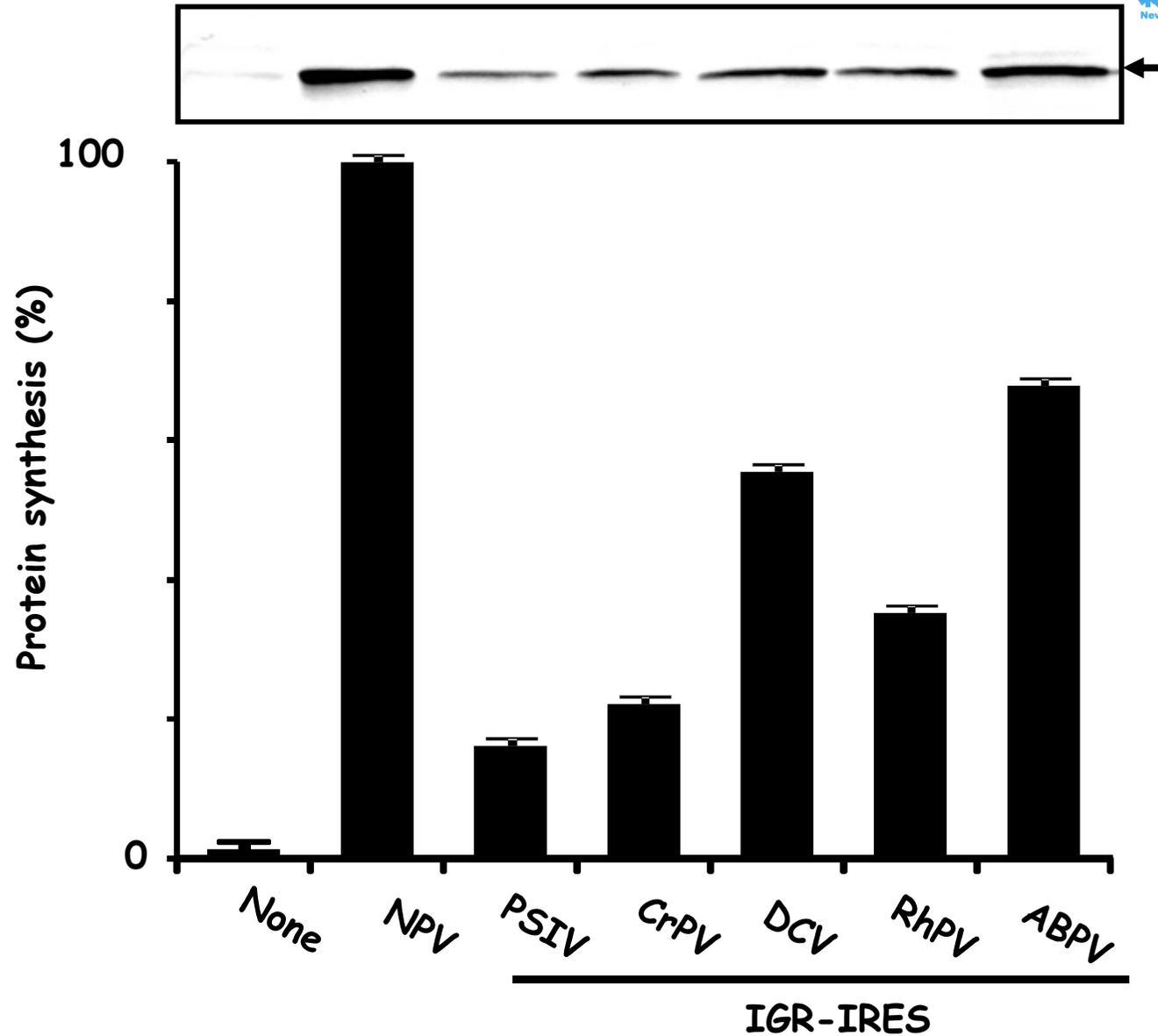
*Drosophila C* virus (DCV), *Rhopalosiphum padi* virus (RhPV)

[Type II に属する IGR-IRES をもつ *Dicistroviridae*]

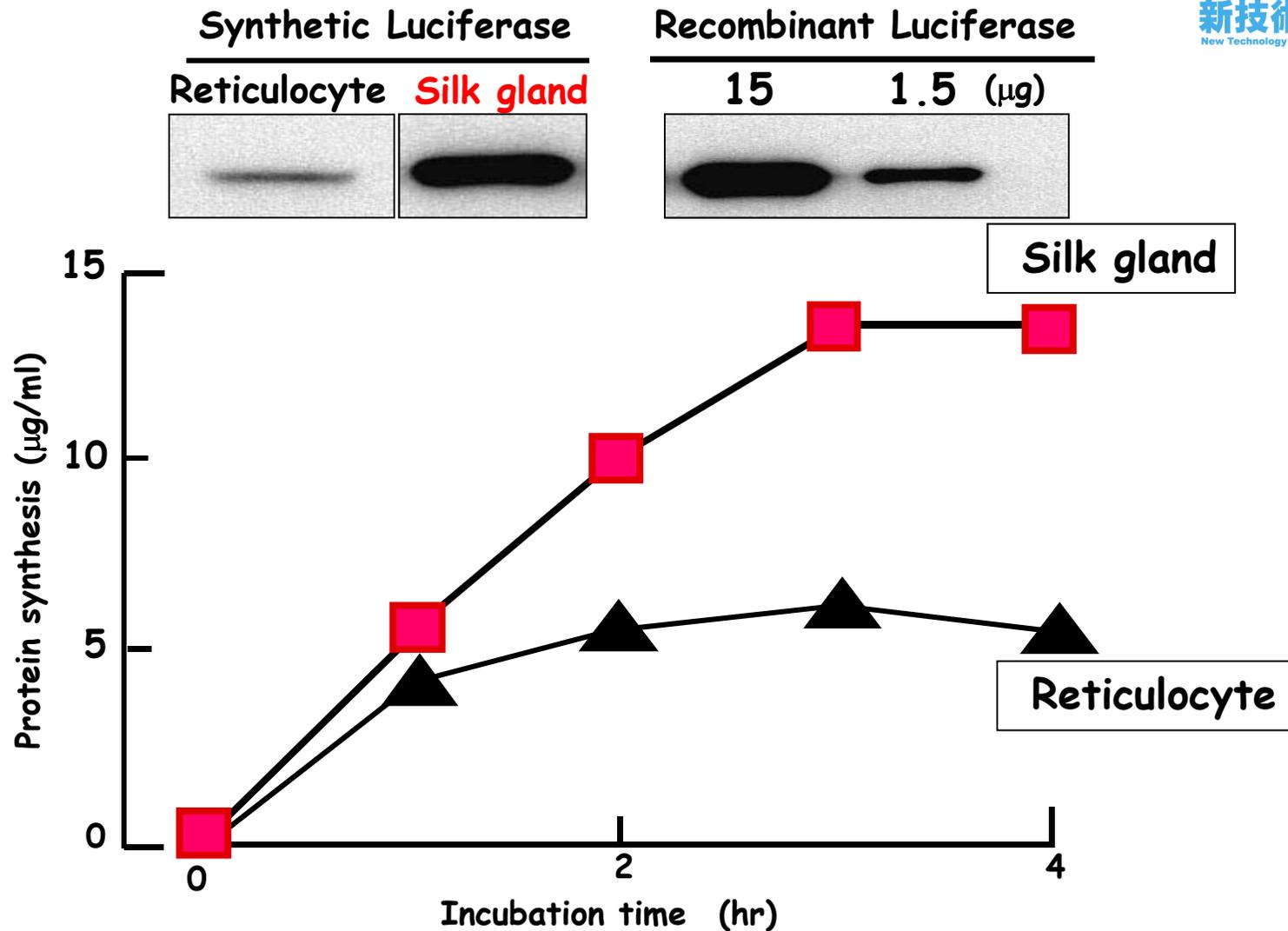
Taura syndrome virus (TSV), *Solenopsis invicta* virus-1 (SINV)

Acute bee paralysis virus (ABPV)

# IGR-IRESの翻訳促進効果

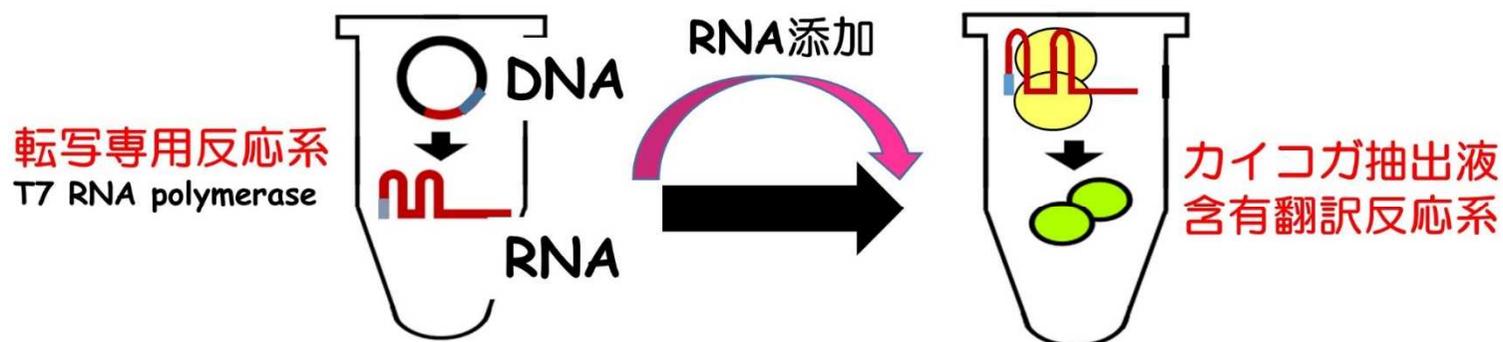


# 実用化可能な合成能力

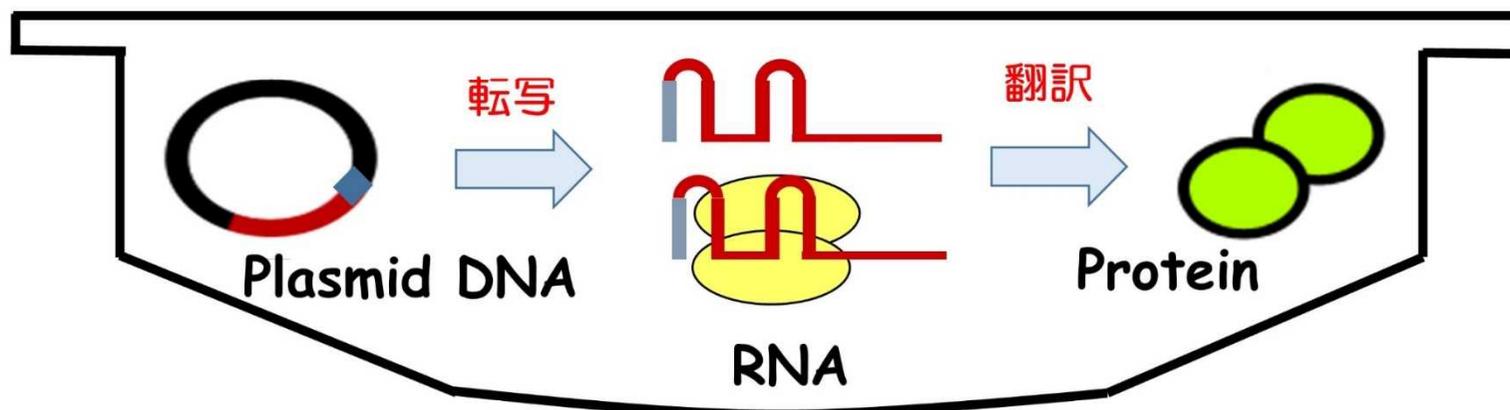


・絹糸腺の系が備えたタンパク質合成能力は  
実用化可能な段階にあります

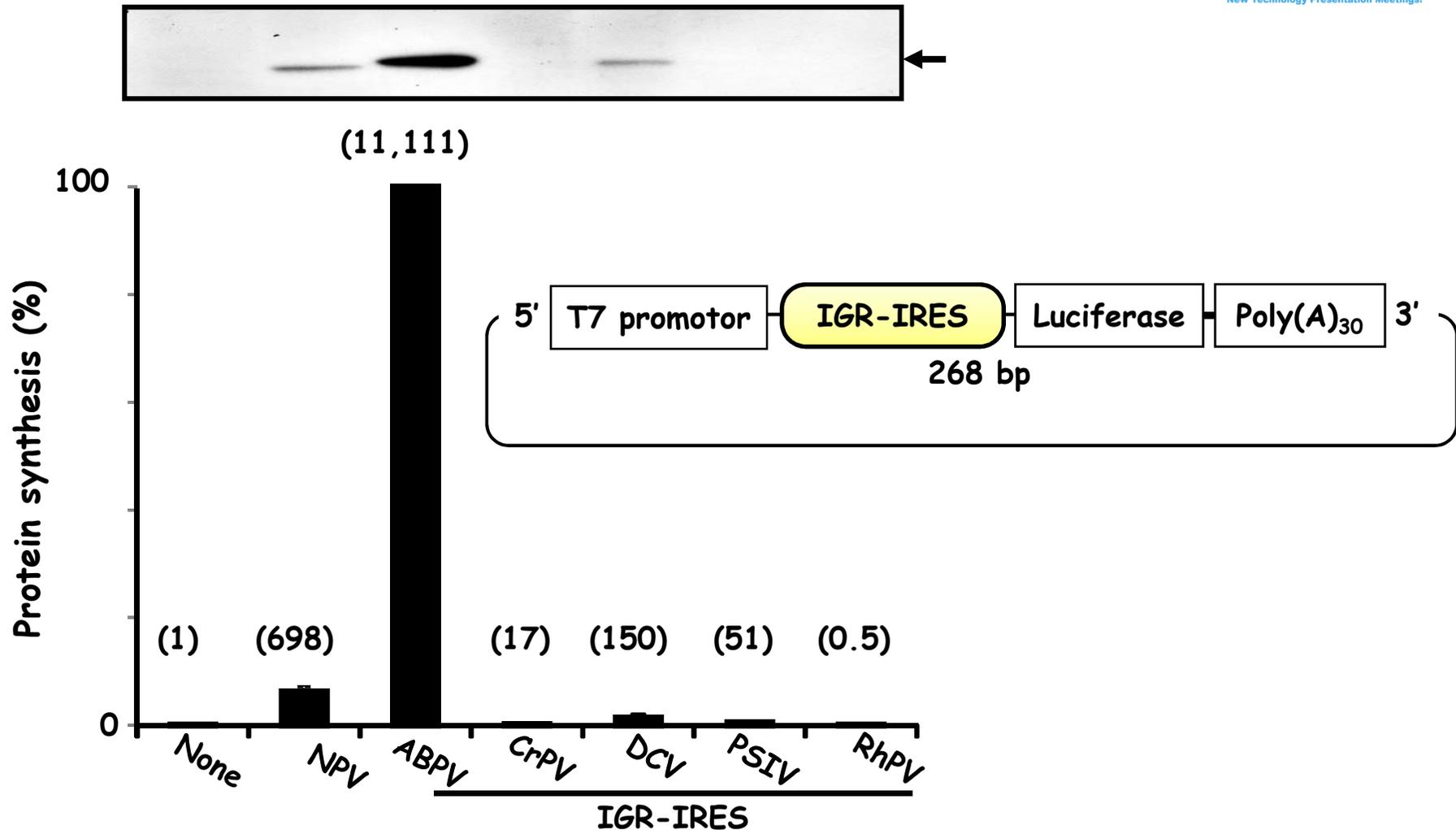
## これまでの無細胞系（転写・翻訳独立型）



## 転写・翻訳共役型無細胞タンパク質合成系

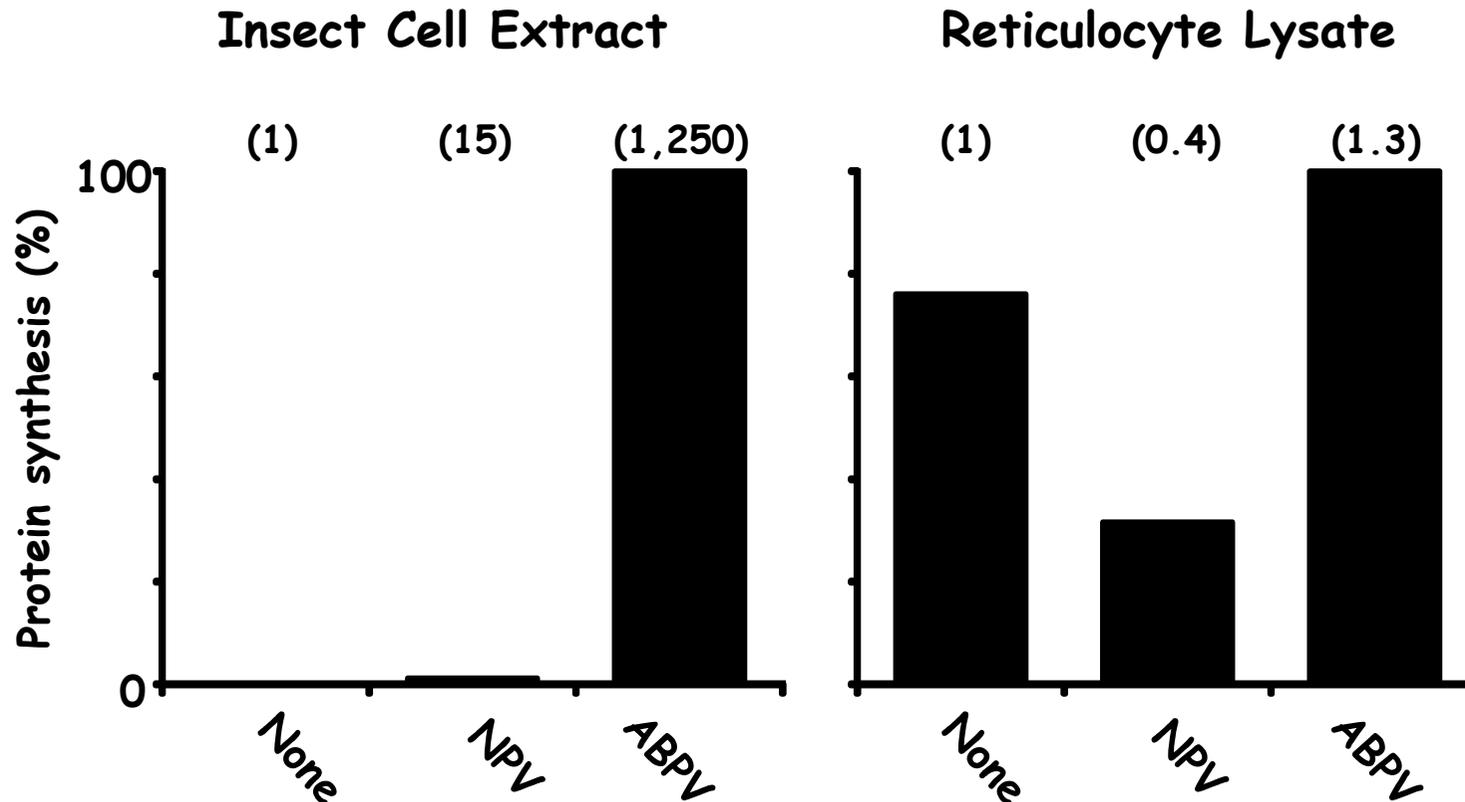


# ABPV IGR-IRESの有効性 (1)



- ・カイコガ転写・翻訳共役型無細胞タンパク質合成系において、**ABPV IGR-IRES**は、合成量を飛躍的に向上させます。

# ABPV IGR-IRESの有効性 (2)



- ・市販の転写・翻訳共役型無細胞タンパク質合成系においても、  
ABPV IGR-IRESは、合成量を増加させます。

- 「ニーズ」の提供
  - どのようなタンパク質をどのぐらいの合成量を必要とするのか？
  - どの程度のコストを希望するのか？
- 「シーズ」に対する要望
  - 無細胞タンパク質合成系を基本においた新規キットの開発
- 問題を抱えているタンパク質の合成をお任せいただけませんか？

## 発明の名称:

転写・翻訳共役型無細胞系タンパク質合成

- ・ 出願番号: 特願2016-015070
- ・ 出願人: 国立大学法人京都工芸繊維大学
- ・ 発明者: 長岡 純治

# お問い合わせ先

京都工芸繊維大学  
産学公連携推進センター 知的財産戦略室  
(研究推進課 知的財産係)

tel. 075-724-7039 / fax. 075-724-7030

e-mail [chizai@kit.ac.jp](mailto:chizai@kit.ac.jp)

<http://www.liaison.kit.ac.jp/>