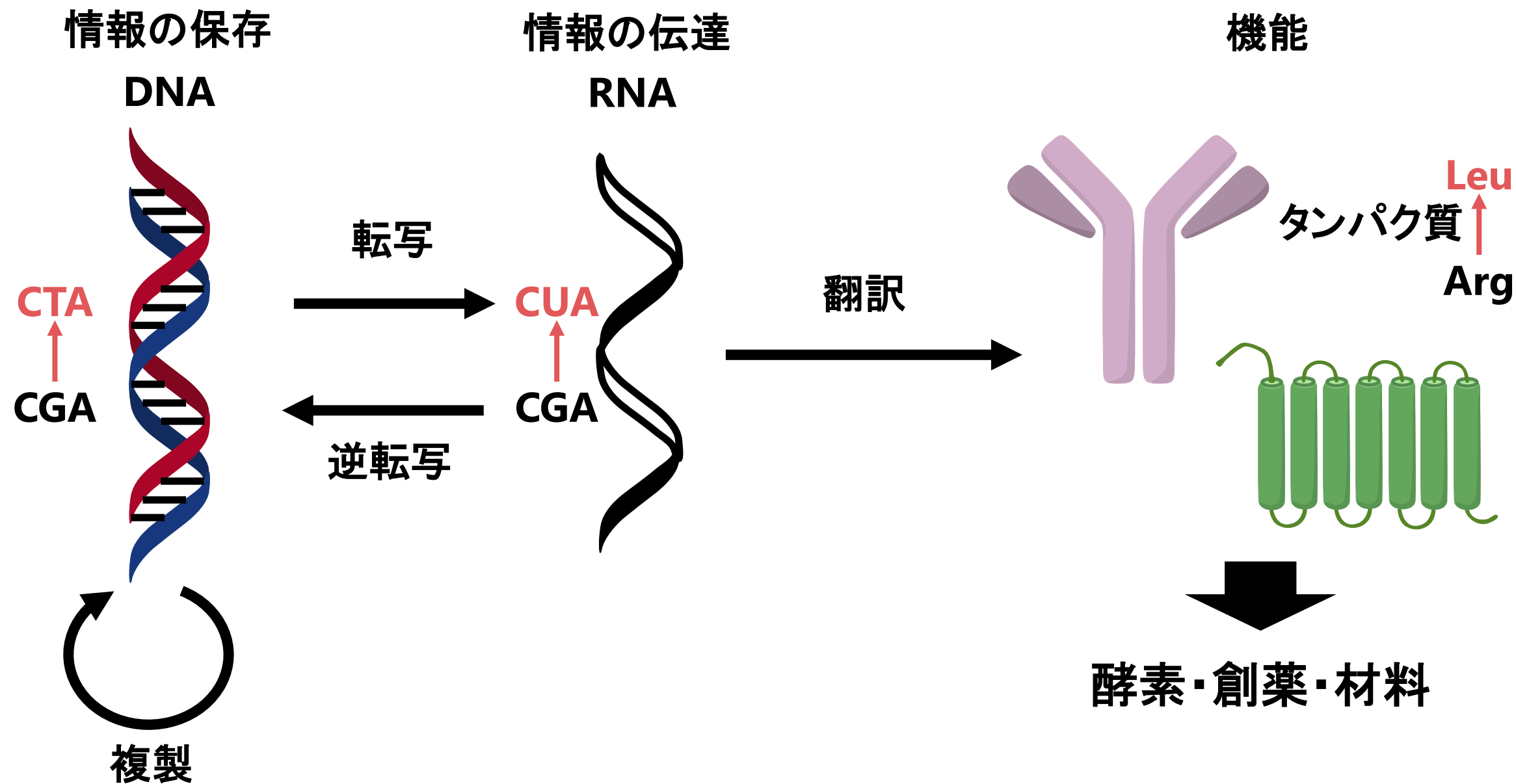


無細胞タンパク質高速スクリーニング によるRNAポリメラーゼ改変体の創出

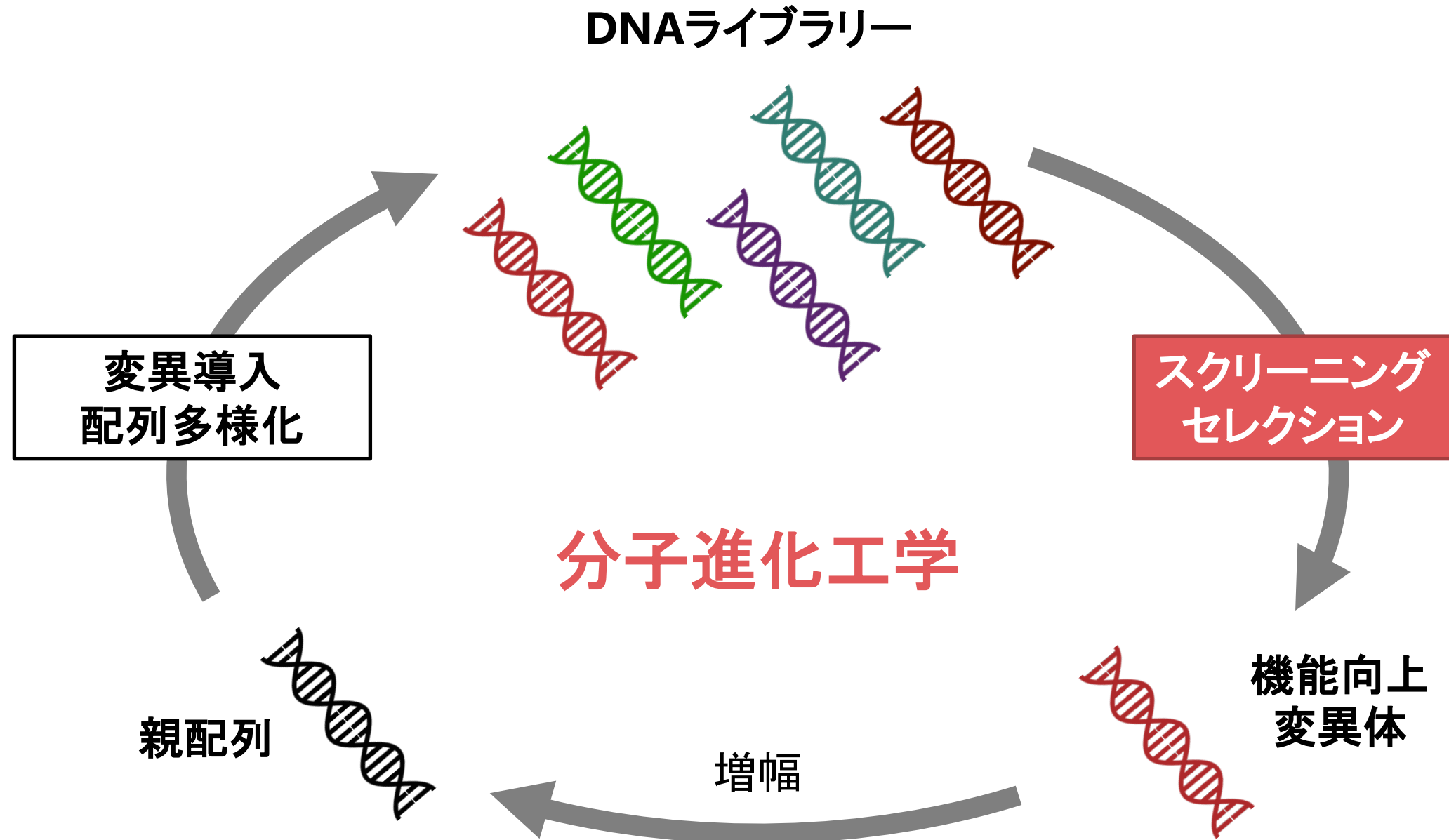
東京科学大学 未来社会創成研究院 地球生命研究所
特任准教授 寺坂 尚紘

2026年6月25日

生命におけるセントラルドグマ



タンパク質機能を改変する進化工学

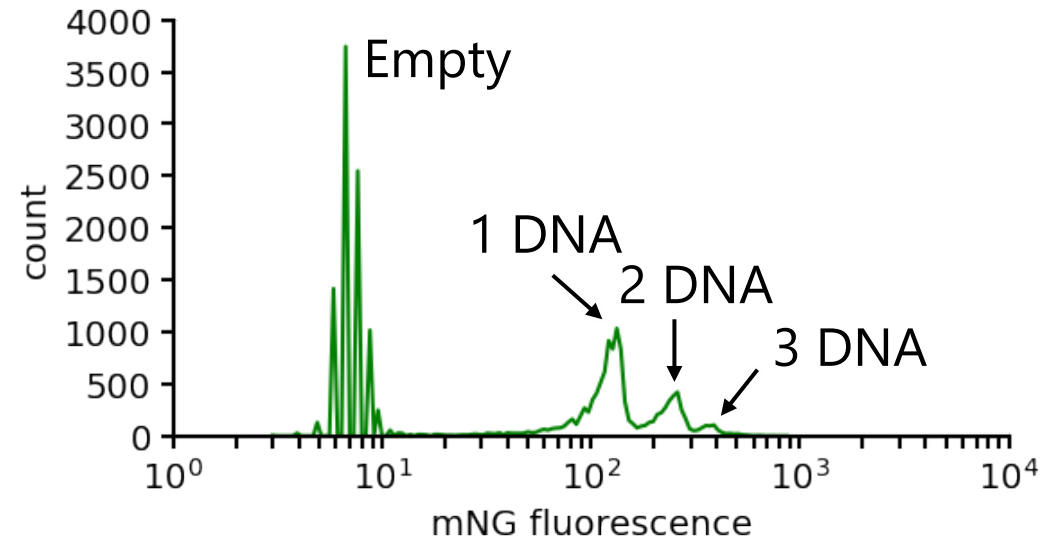
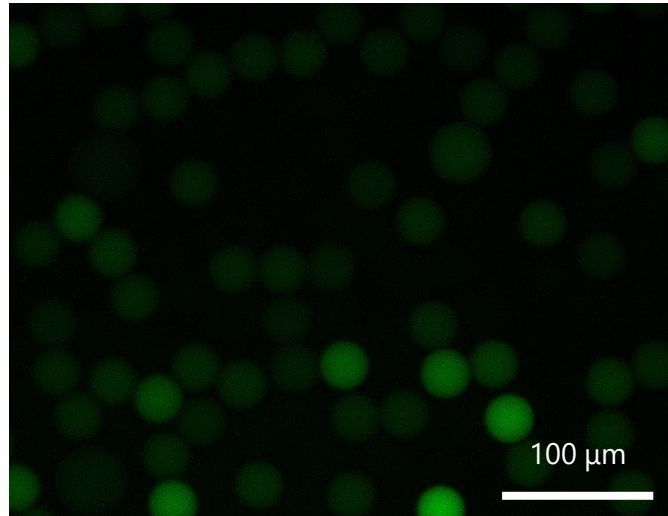


従来技術とその問題点

- 進化工学はタンパク質の機能を劇的に改善可能だが、従来の細胞を用いる方法では時間的コストが高い。
- 無細胞翻訳系は迅速にタンパク質を発現することが可能だが、マイクロ流路などの100万種類以上の変異体スクリーニングへの適用は困難。
- SP6 RNAポリメラーゼは高い活性を持つが、環境依存度が高く、応用の幅が限られている。

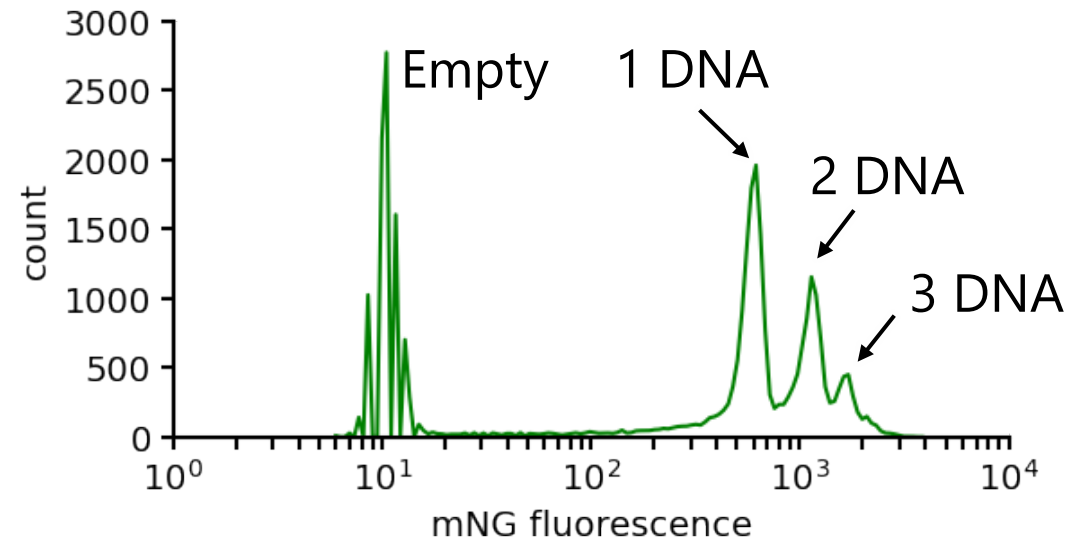
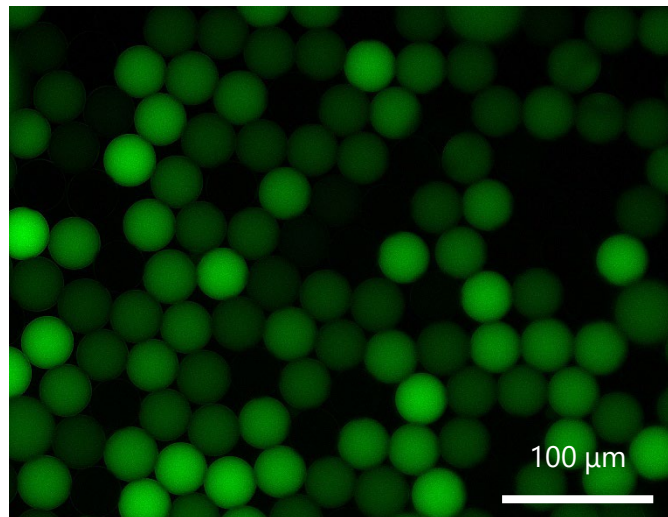
無細胞翻訳系の改変

通常無細胞翻訳系(100 fM DNA, $\lambda \sim 0.5$)



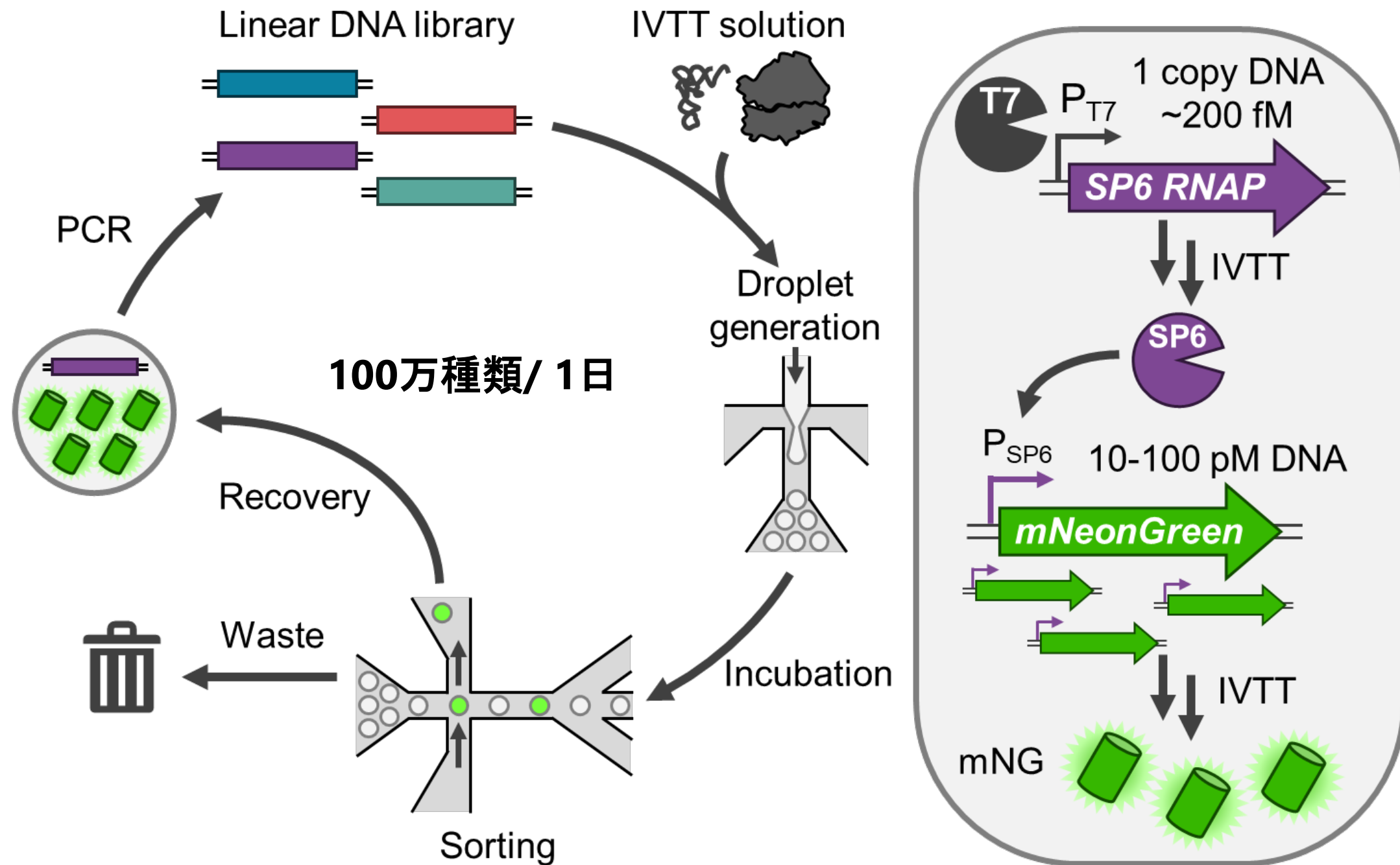
液滴内1分子DNAから
約20 nM 蛍光タンパク
質が発現

改変無細胞翻訳系(100 fM DNA, $\lambda \sim 0.5$)

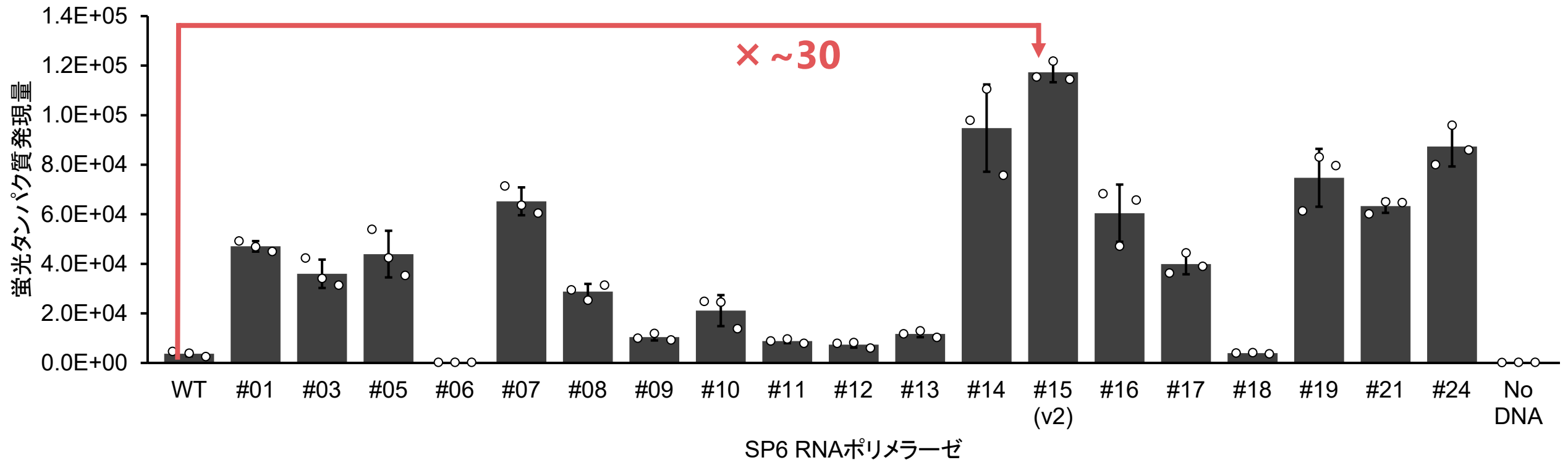
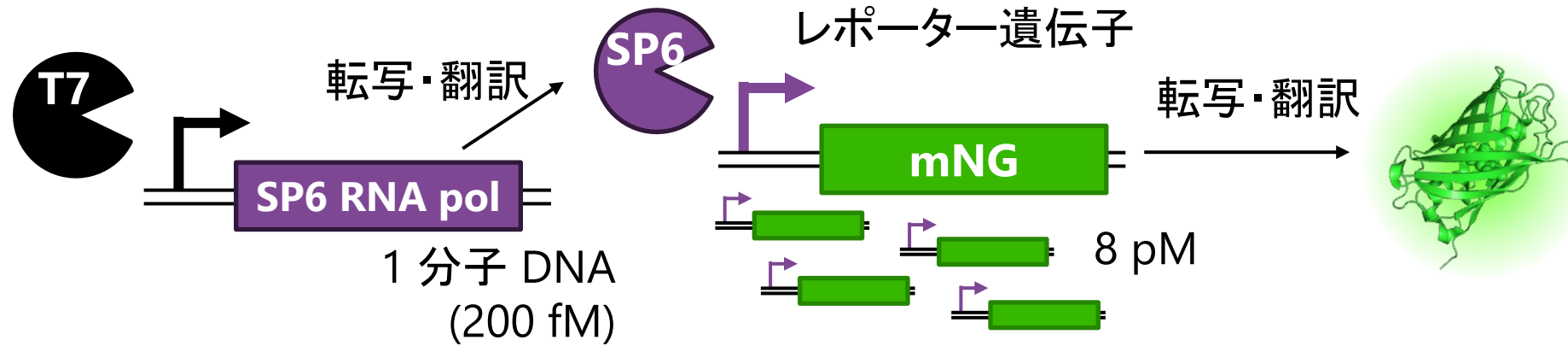


液滴内1分子DNAから
約100 nM 蛍光タンパク
質が発現

無細胞タンパク質スクリーニング



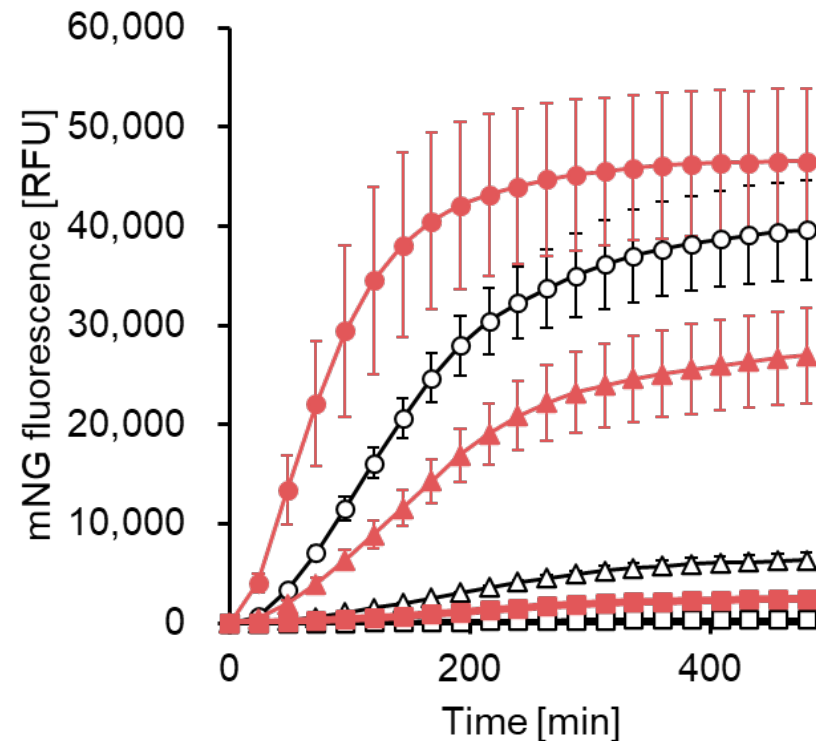
SP6 RNAP変異体の活性向上



改変SP6 RNAポリメラーゼの活性

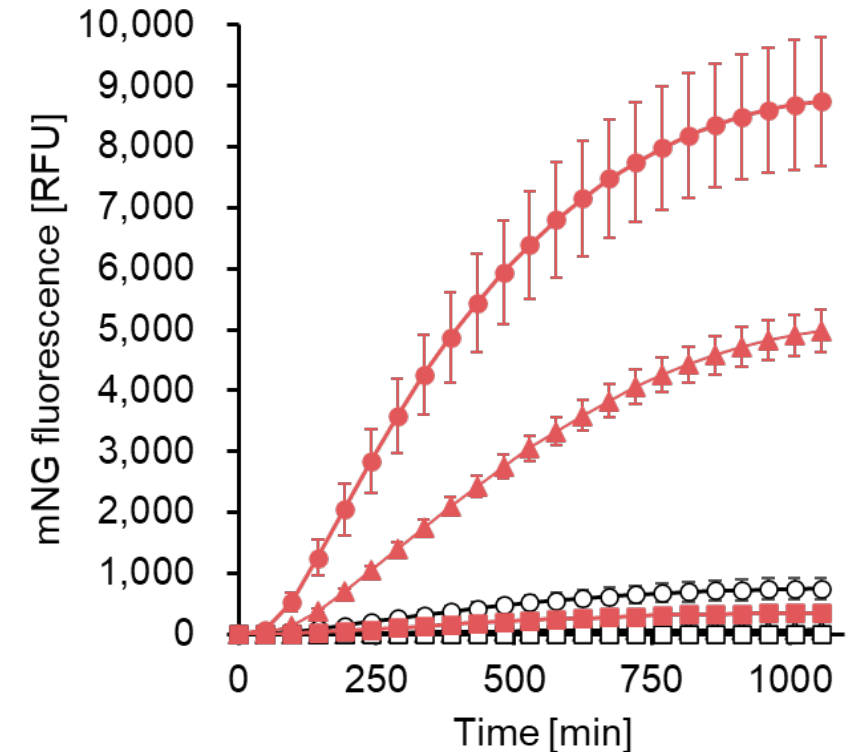
再構成無細胞翻訳系

mNG DNA =	200 pM	20 pM	2 pM
SP6 RNAP-wt	○	△	□
SP6 RNAP-v3	●	▲	■



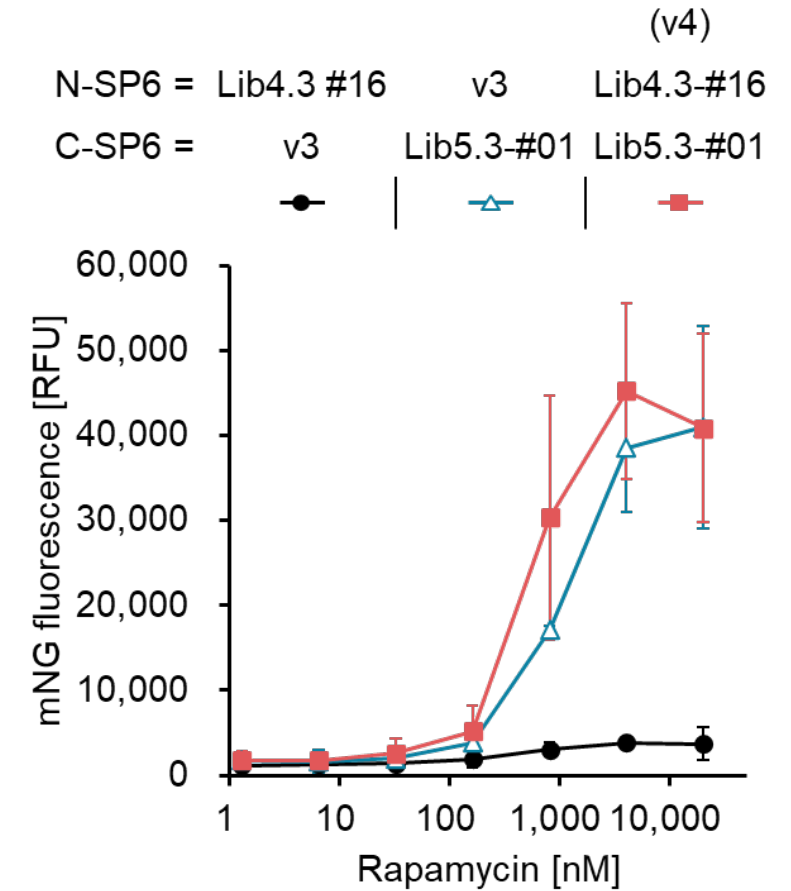
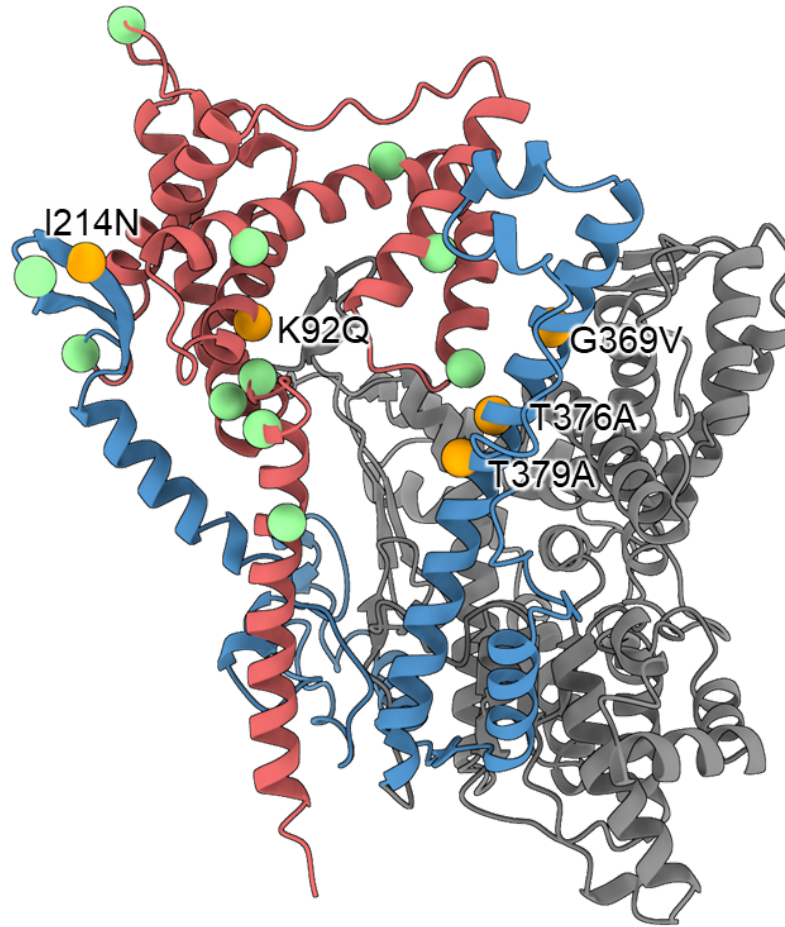
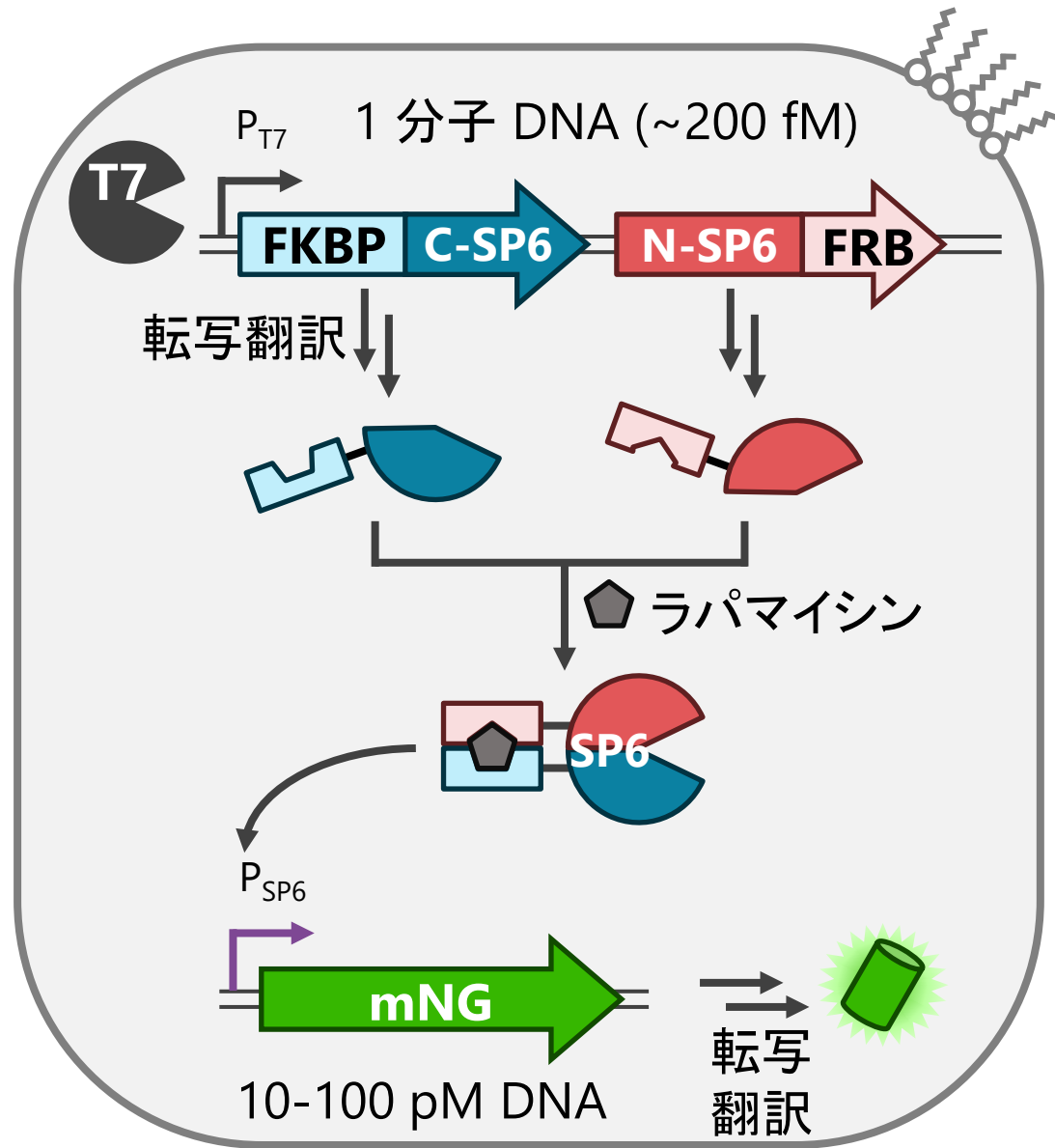
小麦胚芽抽出系

mNG DNA =	2 nM	200 pM	20 pM
SP6 RNAP-wt	○	△	□
SP6 RNAP-v3	●	▲	■



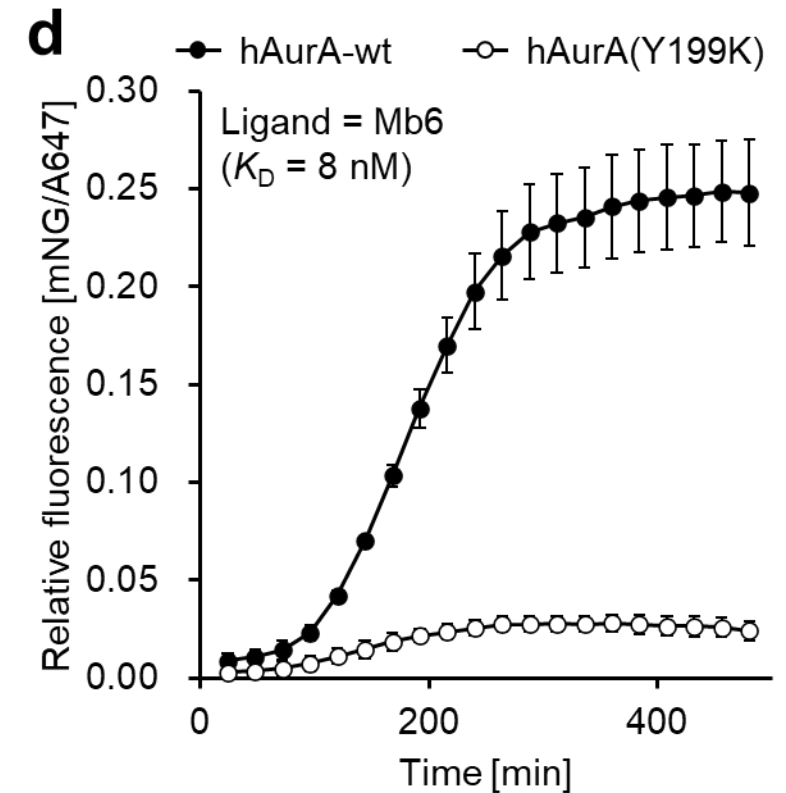
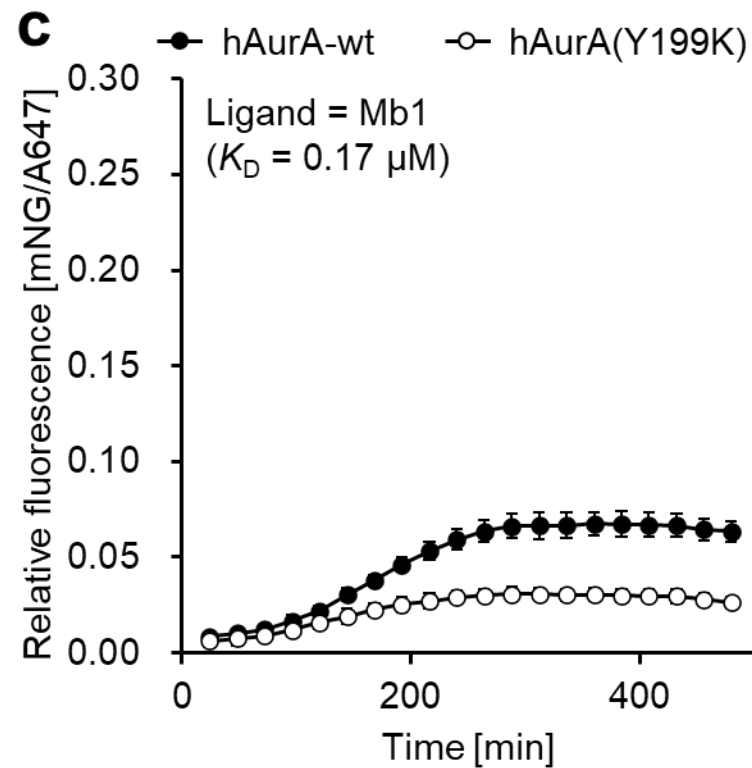
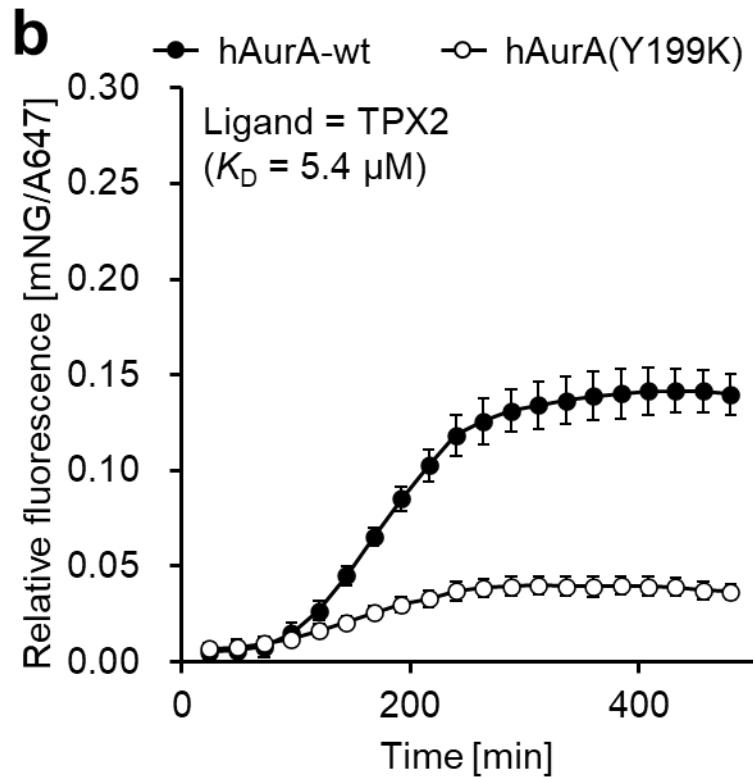
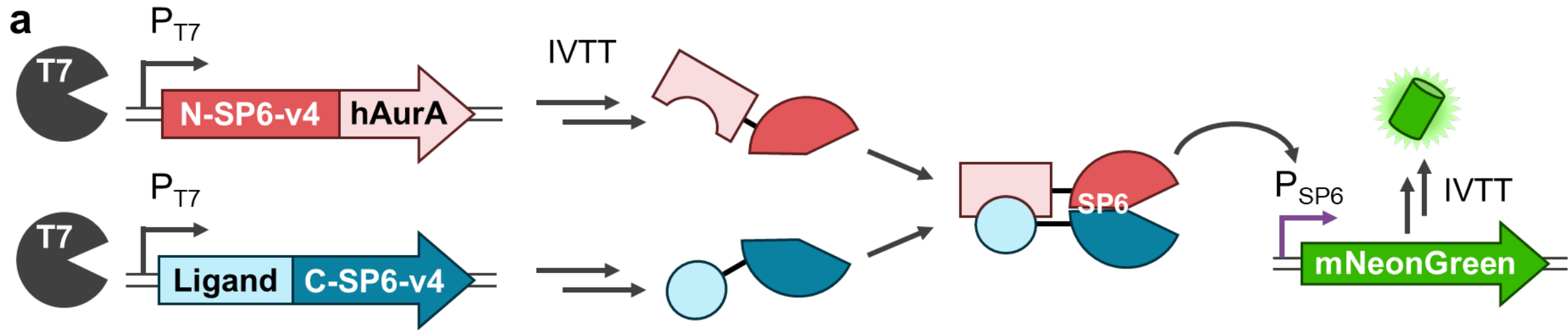
複数の無細胞翻訳系中での活性向上を確認

改変SP6 RNAポリメラーゼ分割体



ラパマイシン依存的に転写活性の誘導を実現

バイオセンサーへの応用



新技術の特徴・従来技術との比較

- 無細胞翻訳系の最適化により、マイクロ流路ドロップレットスクリーニングへの適用を実現。1日で100万種類以上のタンパク質変異体スクリーニングを可能にした。
- 上記の系で進化したSP6 RNAポリメラーゼは試験管内・細胞内で野生型よりも高い活性を持つ。
- さらに改変した分割SP6 RNAポリメラーゼは、バックグラウンド活性が非常に低いバイオセンサーとして働く。

想定される用途

- 本技術により、様々な機能を持つタンパク質酵素のハイスループットスクリーニングが可能になる。
- 改変SP6 RNAポリメラーゼおよびその分割体はRNA医薬品製造試薬、検査試薬への応用が期待される。

実用化に向けた課題

- 現在、改変SP6 RNAポリメラーゼが既知のT7 RNAポリメラーゼと同等の転写活性を持つことを確認済み。しかし、RNA医薬の副反応の原因となる、転写反応の副産物の定量が未達。
- 今後、改変SP6 RNAポリメラーゼによる転写副産物について実験データを取得し、RNA医薬品製造に適用していく場合の条件設定を行っていく。

社会実装への道筋

時期	取り組む課題や明らかにしたい原理等	社会実装への取り組みについて
基礎研究	・無細胞タンパク質進化系の構築が完了	
現在	・SP6 RNAポリメラーゼ改変体の創出が実現	
3年後	・更なるRNAポリメラーゼの改変を実現 ・転写副産物の低下を実現	例：評価基礎データの提供 サンプル提供が実現

企業への期待

- RNAポリメラーゼを試薬として販売する企業との共同研究を希望
- 大規模配列データの解析・モデル化技術を持つ、企業との共同研究を希望。
- また、機能性分子（酵素など）を開発中の企業、ライフサイエンス分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

企業への貢献、PRポイント

- 無細胞タンパク質スクリーニング技術は様々な機能性分子への適用が可能なため、スクリーニング技術のノウハウ・ハイスループットスクリーニングのデータ・進化した機能性分子を提供することで企業に貢献できると考えている。
- SP6 RNAポリメラーゼ改変体の更なる追加解析を行うことで、導入に向けた科学的な裏付けを行うことが可能。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : RNAポリメラーゼ改変体
- 出願番号 : 特願2025-140438
- 出願人 : 東京科学大学
- 発明者 : 寺坂尚紘

産学連携の経歴

- 2025年-2026年 SyntheticGestalt社と共同研究実施(PETボトル分解技術)

お問い合わせ先

東京科学大学 (Science Tokyo)
産学共創機構技術プロモーション室

T E L 03-5734-3817

e-mail consult@cim.isct.ac.jp