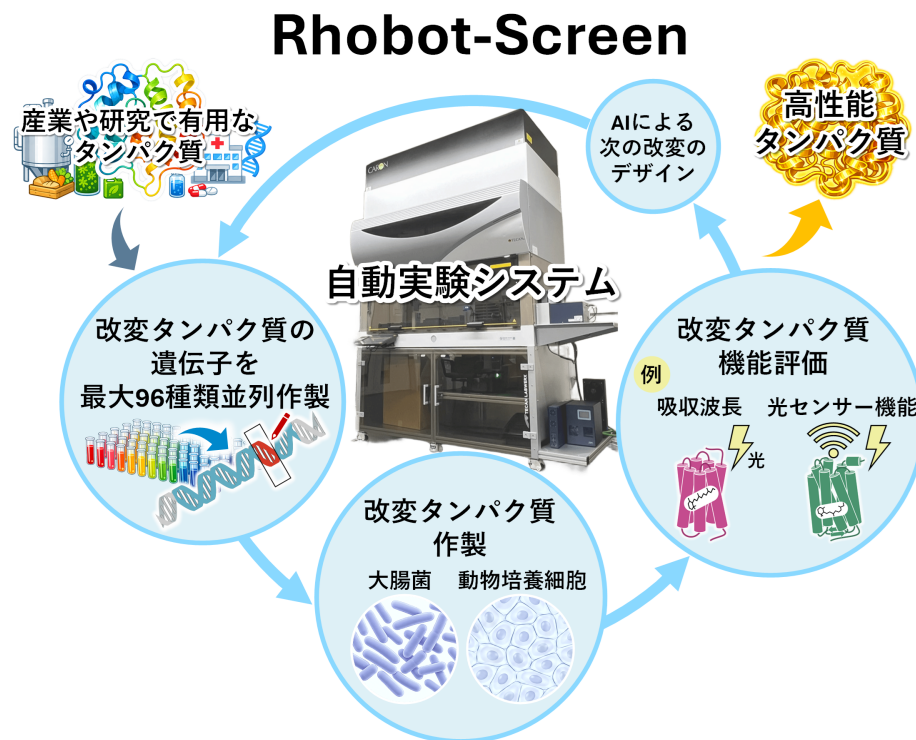


タンパク質高性能化研究をロボットで自動化 ——AI が提案した候補を迅速に試せる研究基盤を開発——

発表のポイント

- ◆産業や研究に役立つ性質を持つタンパク質の高性能化を効率よく行うため、遺伝子の改変からタンパク質の性能評価までの実験を、ロボットで一貫して行うシステム「Rhobot-Screen」を開発しました。
- ◆これまで別々に行われていた複数の実験工程をつなぐことで、多数の候補を同じ条件で高精度に解析でき、実験者の経験に左右されにくいデータを取得できるようになりました。
- ◆今後、人工知能（AI）が次に調べる候補をデザインし、ロボットがその実験データを取得、さらに得られた結果を AI にフィードバックする、AI 駆動型の自律的タンパク質開発への基盤となります。



遺伝子改変からタンパク質の作製、機能評価までを行える自動実験システム Rhobot-Screen の概略図

概要

東京大学物性研究所の永田崇助教、今野雅恵特任助教（現：同大学大学院新領域創成科学研究科）、橋本大輔大学院生（同大学大学院理学研究科）、井上圭一特任教授（兼：大学院新領域創成科学研究科教授）による研究グループは、目的に合った性質を持つタンパク質を効率よく開発するための自動実験システム「Rhobot-Screen（ロボット・スクリーン）」を開発しました。

遺伝子の改変からタンパク質の作製、性能評価まで、これまで別々に行われていた複数の実験工程をロボット上でつなぎ、多数の候補分子を同じ条件で並行して調べることができます。

近年、AI や機械学習（注 1）を使って、目的に合ったタンパク質を設計する研究が進んでいます。AI の予測精度を高めるには、既存のタンパク質のどのアミノ酸を変えるとその性質がどのように変化するかを示す、大量で質のそろった実験データが必要とされます。しかし従来は、改変体タンパク質遺伝子の作製からタンパク質の作製、機能測定まで多くの工程が手作業で行われるため、実験者の経験や技能によって処理速度やデータの質が変動しやすいことが課題でした。

Rhobot-Screen では、目的の改変タンパク質を作製し、その性能を測定するまでの一連の操作を、一貫して 96 個の試料を並列に扱えるよう統合実験ワークフローを開発しました。これにより、自動実験ロボットを用いて多数の候補タンパク質を同じ条件で作製・比較し、信頼性の高いデータを継続的に蓄積できるようになります。

研究グループは、システムの性能を確かめるため、光を受けて働くタンパク質「ロドプシン」（注 2）を実験対象として用いました。そして、多数の改変体を自動で作製・評価した結果、特定の位置のアミノ酸を変化させることでロドプシンが吸収する光の色が変化する仕組みを明らかにしました。さらに、微生物由来のロドプシンだけでなく、動物の体内で光センサーとして働く動物ロドプシンの機能も評価できることを実証しました。

今後、Rhobot-Screen によって得られたデータを AI が再学習し、次に調べるべき改変体を提案し、その候補をロボットが作製・評価するパイプラインを発展させることで、予測と実験を自律的に繰り返す AI 駆動型タンパク質開発が可能になります。本システムは、医療や産業、研究など幅広い分野で社会に役立つ高性能タンパク質の開発を、より迅速かつ効率的に行うための基盤技術となることが期待されます。

本成果は国際科学誌「BMC Biology」の 8 月 6 日付オンライン版（英国夏時間、日本時間）に掲載されました。

発表内容

タンパク質工学（注 3）では、天然のタンパク質を構成するアミノ酸の一部を置き換えることで、目的に合った性質や新たな機能を持つ分子を作り出します。近年では、既知のアミノ酸配列と実験データを AI 技術で解析し、目的とする性質を持つ可能性の高い改変体を予測する手法が注目されています。予測と実験を繰り返すことで、膨大な候補をすべて試すことなく、望ましい改変体を効率的に探索できるためです。

このようなタンパク質工学の重要な対象の一つが、光を受けて働くタンパク質であるロドプシンです。ロドプシンは、光刺激によって細胞の働きを制御できることから、光を用いて神経細胞や脳回路の活動を操作する「光遺伝学（オプトジェネティクス）」（注 4）において重要な分子ツールとして利用されています。光遺伝学は、神経機能や神経疾患の理解、治療法の開発にもつながる研究分野であり、生体機能を時間的・空間的に精密に制御できるロドプシンの開発が求められています。

一方、ロドプシンの吸収波長、機能活性、反応特性などを、アミノ酸配列だけから高精度に予測することは容易ではありません。AI による設計を実際のタンパク質開発につなげるには、提案された改変体を正確に作製し、同じ条件で機能を測定して、その結果を次の予測に反映させる必要があります。しかし従来は、改変体遺伝子の作製から機能解析までの各工程が別々に行われ、多くの手作業と熟練を要していました。

研究グループは、この一連の工程を自動実験ロボット上で統合した Rhobot-Screen を構築しました (図 1)。96 個の試料を並列に扱えるプレート (96 ウェルプレート) を共通の容器として用い、液体の吸引・分注・混合、プレートの移動、大腸菌クローニング操作、タンパク質発現実験などを自動化しました。特に、通常は寒天培地上のコロニーを一つずつ拾うクローン分離について、細胞を液体培地で十分に薄めることで、単一の細胞をプレート上の別の培養区画に分配し、細胞が増殖したウェルを吸光度で判定する方法を採用しました。これにより、自動実験ロボットの複雑化を必要としない、自動化に適した効率的なクローン分離を実現しました。

Rhobot-Screen ロドプシン改変体機能スクリーニングのための統合ロボットプラットフォーム

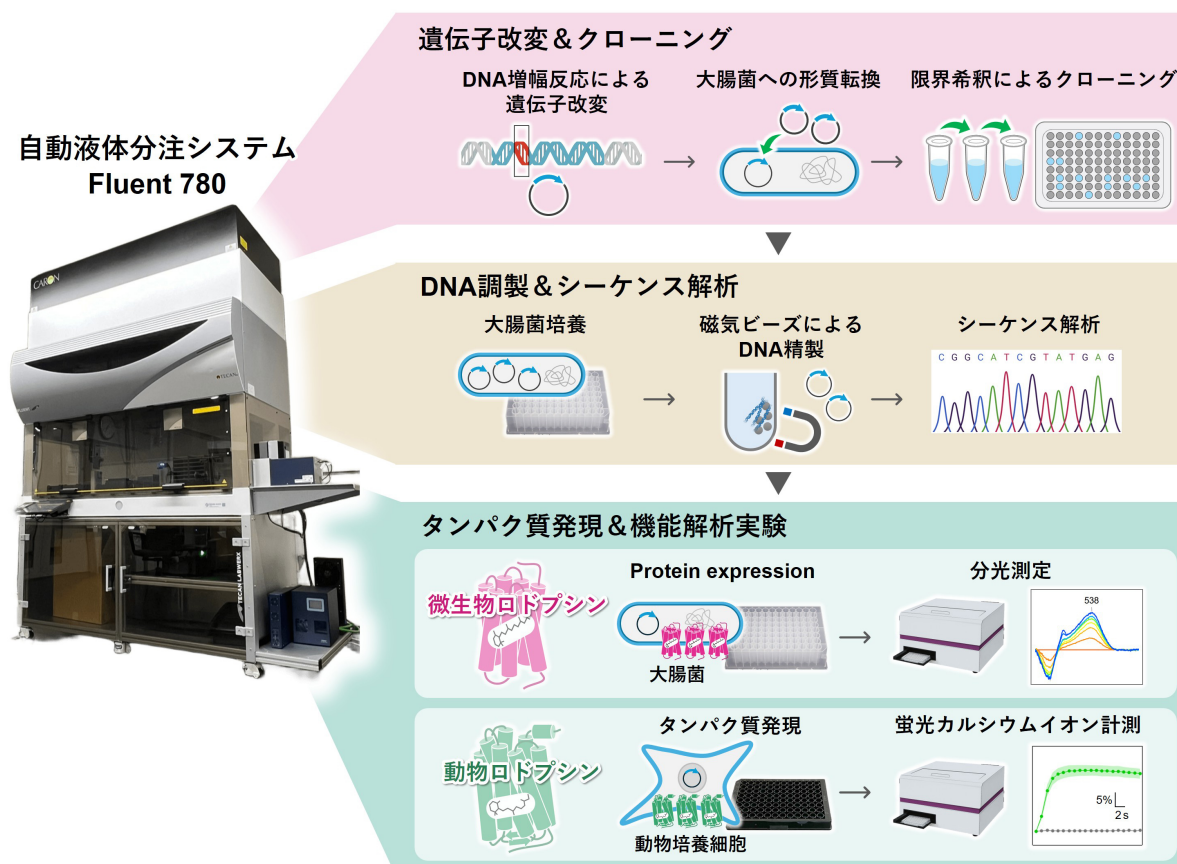


図 1：自動液体分注システムにより、ロドプシン改変体の作製から機能測定までを一貫した 96 ウェル形式で実行する Rhobot-Screen

Rhobot-Screen の性能を検証するため、研究グループは、シアノバクテリア由来の光駆動型水素イオンポンプである「*Gloeobacter* rhodopsin (GR)」を対象としました。ロドプシンはタンパク質内部にレチナール色素を結合しており、その周囲のアミノ酸が変わると、吸収する光の色 (吸収波長) が変化します。そこで、レチナール色素を取り囲む 3 つの代表的な色調節部位、129 番目、226 番目、256 番目のアミノ酸を選び、それぞれを元のアミノ酸以外の 19 種類に置き換えた計 57 種類の改変体を作製しました (図 2)。

各改変体の吸収波長測定では、タンパク質の精製工程を省き、大腸菌から得た試料中でロドプシン由来の吸収だけを選択的に検出する「ヒドロキシルアミンブリーチ法」を採用しました。今回新たに、96 ウェルプレートで実施できる実験法を確立し、迅速かつ並列化して測定が可能

になりました。実験の結果、発現量が低かった 11 種類を除き、46 種類の改変体について吸収波長を決定できました。野生型 GR の測定値は既報の精製タンパク質の値と一致し、3 回の独立実験でも高い再現性が得られました。測定結果をアミノ酸の物理化学的性質と比較したところ、129 番目と 256 番目では、置換したアミノ酸の側鎖体積が大きいほど長波長側へ変化する傾向がみられました。特に 256 番目で強い相関が得られました。一方、226 番目では側鎖体積との相関がほとんどみられず、多くの置換が長波長化を引き起こしました（図 2）。この結果は、同じタンパク質内の「色を変える部位」であっても、波長を制御する分子機構は位置ごとに異なり、単純な一つの規則だけでは説明できないことを示しています。

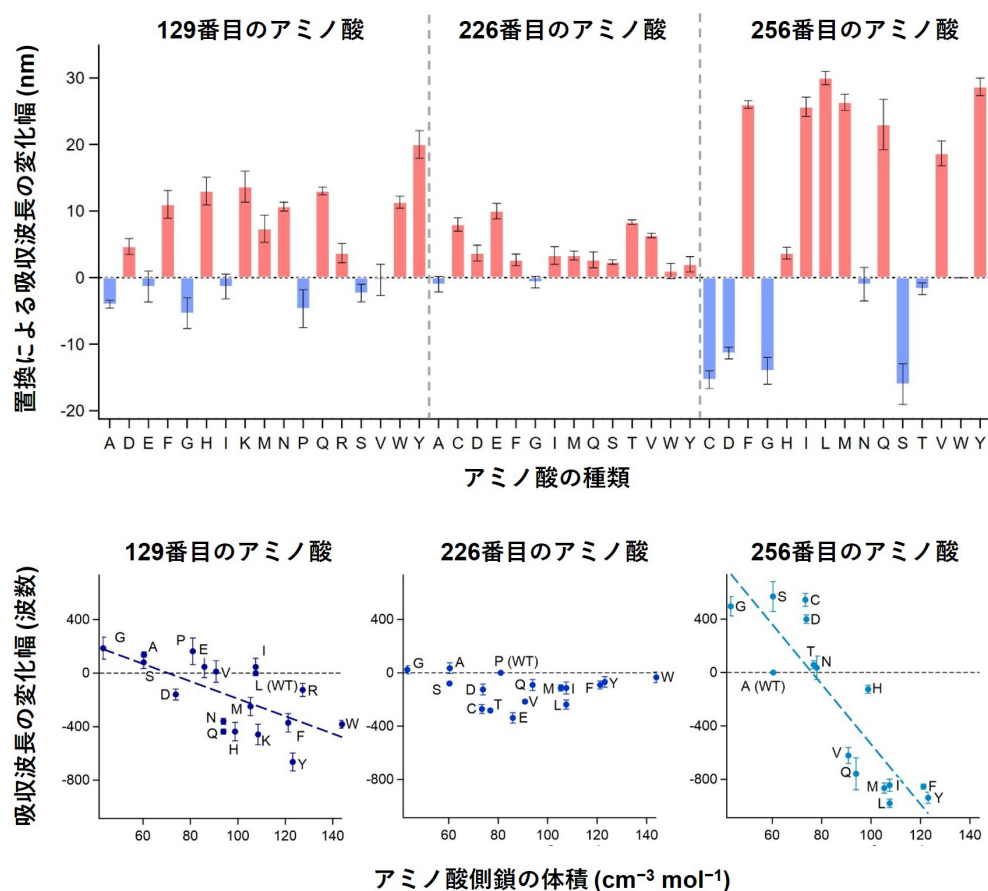


図 2 : GR 改変体の吸収波長変化（上）と、アミノ酸側鎖体積との関係（下）

129 番目と 256 番目のアミノ酸では体積との相関がみられたが、226 番目のアミノ酸では相関が見られなかった。図中ではアミノ酸の種類をアルファベット一文字表記で示している。

Rhobot-Screen は、測定モジュールを切り替えられる設計となっています。研究グループは次に、光センサーとして働く動物ロドプシンの機能を評価する測定モジュールを構築しました。クモの視覚に関わる動物ロドプシン SpiRh1 を哺乳類培養細胞に発現させ、光を当てると細胞内の情報伝達が活性化し、カルシウム濃度が上昇することを蛍光測定によって確認しました。これにより、同じ自動化基盤を用いて、大腸菌で発現させた微生物ロドプシンと、哺乳類培養細胞で発現させた動物ロドプシンの双方を評価できることが示されました。

今後の展望

Rhobot-Screen の特長は、これまで別々に行われていた工程を標準化された一連の流れとして接続し、実験者による技能差の影響を抑えながら、多数の試料を並列に処理できるようにした点にあります。目的に応じて指定した改変体を同じ条件で作製・解析できるため、アミノ酸配列と機能を対応づけた信頼性の高い定量データを継続的に蓄積できます。こうして得られたデータを AI が解析して次に調べるべき改変体を提案し、その候補をロボットが作製・評価して、結果を次の予測に反映させるという、次世代の AI 駆動型のタンパク質工学を進めるための基盤となります。これにより、生命科学分野における DX を推進し、これまで見いだすことが難しかった、あるいは、従来は大量の時間と労力を要し、発見が難しかった有用なタンパク質の開発等、新たな生命科学の発見を加速することが期待されます。今後、イオン輸送活性、蛍光、細胞内シグナル、電気生理学などの測定モジュールを追加することで、光遺伝学に用いる分子の性能を多面的に評価するとともに、ロドプシン以外のタンパク質への応用も期待されます。

発表者・研究者等情報

東京大学

物性研究所

永田 崇 助教

大学院新領域創成科学研究科

今野 雅恵 特任助教

井上 圭一 教授（兼：物性研究所 特任教授）

大学院理学研究科化学専攻

橋本 大輔 修士課程

論文情報

雑誌名：BMC Biology

題 名：Rhobot-Screen: an integrated robotic platform for functional screening of rhodopsin variants

著者名：Takashi Nagata[#], Masae Konno[#], Daisuke R. Hashimoto, Keiichi Inoue^{*}

[#]共同筆頭著者、^{*}責任著者

DOI: 10.1186/s12915-026-02691-x

研究助成

本研究は、科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業 CREST「データ駆動・AI 駆動を中心としたデジタルトランスフォーメーションによる生命科学研究の革新」における研究課題「AI が先導するオートメーションタンパク質工学の創出」（研究代表者：井上圭一、課題番号：JPMJCR22N2）、日本学術振興会（JSPS）科学研究費助成事業（課題番号：JP23H04863、JP25K09698、JP23K05007、JP26H00462、JP24H02268、JP25H00424）、公益財団法人光科学技術研究振興財団、および文部科学省・学際領域展開ハブ形成プログラム・マルチスケール量子ー古典インターフェース研究コンソーシアム（課題番号：JPMXP1323015482）による支援を受けて行われました。

（用語解説）

（注 1）機械学習

多数のデータに含まれる規則性をコンピューターに学習させ、未知のデータに対する分類や数値予測を行う技術です。本研究では機械学習そのものを用いて改変体を設計したのではなく、将来の機械学習に必要な一貫性のある実験データを作る基盤を開発しました。

（注 2）ロドプシン

タンパク質内部にビタミン A の類縁体であるレチナール色素を結合し、光を受け取って働く膜タンパク質の総称です。微生物ロドプシンはイオン輸送などを、動物ロドプシンは視覚や細胞内情報伝達などを担います。

（注 3）タンパク質工学

アミノ酸配列を改変し、タンパク質の活性、安定性、反応選択性、光応答性などを改善したり、新しい機能を付与したりする研究分野です。

（注 4）光遺伝学（オプトジェネティクス）

光に応答するタンパク質を生体内の細胞に導入し、光を照射して神経活動や細胞内シグナルなどを操作・計測する技術です。

問合せ先

（研究内容については発表者にお問合せください）

東京大学物性研究所/大学院新領域創成科学研究科

教授 井上 圭一（いのうえ けいいち）

E-mail : inoue@issp.u-tokyo.ac.jp

〈報道に関する問合せ〉

東京大学物性研究所 広報室

TEL : 04-7136-3207 E-mail : press@issp.u-tokyo.ac.jp

東京大学大学院新領域創成科学研究科 広報室

TEL : 04-7136-5450 E-mail : press@k.u-tokyo.ac.jp

科学技術振興機構 広報課

TEL : 03-5214-8404 E-mail : jstkohe@jst.go.jp

〈JST 事業に関する問合せ〉

科学技術振興機構 戦略研究推進部 ICT グループ

櫻間 宣行（さくらま のりゆき）

TEL : 03-3512-3526 E-mail : crest@jst.go.jp