

請求の範囲

- [請求項1] ペプチドの製造方法であって、改変されたL31タンパク質を含むリボソームを含む翻訳系中で、1種または複数種の非天然アミノ酸を含むペプチドをコードするmRNAを翻訳する工程を含み、前記改変されたL31タンパク質を含むリボソームは、配列番号：1のアミノ酸配列を含む大腸菌野生型L31を含むリボソームと比較して、前記非天然アミノ酸を含むペプチドの翻訳活性が大きい、前記方法。
- [請求項2] ペプチドの製造方法であって、改変されたL31タンパク質を含むリボソームを含む翻訳系中で、1種または複数種の非天然アミノ酸を含むペプチドをコードするmRNAを翻訳する工程を含み、前記改変されたL31タンパク質が、以下の(1)から(3)に記載のタンパク質からなる群より選択される、前記方法：
- (1) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列において、C末端から6以上のアミノ酸残基が欠失したアミノ酸配列を含むタンパク質、
- (2) 前記(1)に記載のタンパク質のアミノ酸配列において、1または複数のアミノ酸が挿入、置換、欠失および／または付加されたアミノ酸配列を含むタンパク質、
- (3) 前記(1)に記載のタンパク質のアミノ酸配列と80%以上の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質。
- [請求項3] 前記(2)および前記(3)に記載のタンパク質を含むリボソームが、配列番号：1のアミノ酸配列を含む大腸菌野生型L31を含むリボソームと比較して、非天然アミノ酸を含むペプチドの翻訳活性が大きい、請求項2に記載の方法。
- [請求項4] 前記翻訳系における、全リボソームに対する前記改変されたL31タンパク質を含むリボソームの割合が50%以上である、請求項1～3のいずれかに記載の方法。
- [請求項5] 前記ペプチドを環化する工程をさらに含む、請求項1～4のいずれかに記載の方法。

- [請求項6] 前記ペプチドが、その開始アミノ酸の位置に非天然アミノ酸を含む、請求項1～5のいずれかに記載の方法。
- [請求項7] 以下（a）および（b）に記載の工程を含む、標的物質に結合するペプチドのスクリーニング方法；
（a）請求項1～6のいずれかに記載された方法によって得られるペプチドまたは当該ペプチドを含むライブラリに標的物質を接触させる工程、および
（b）前記標的物質に結合するペプチドを選択する工程。
- [請求項8] 請求項2～7のいずれかに記載の、改変されたL31タンパク質。
- [請求項9] 請求項8に記載の改変されたL31タンパク質をコードする単離された核酸。
- [請求項10] 請求項9に記載の核酸を含むベクターまたは細胞。
- [請求項11] 以下（a）～（c）に記載の工程を含む、改変されたL31タンパク質を含むリボソームの製造方法；
（a）請求項10に記載の細胞を培養する工程、
（b）前記細胞の培養物から溶解液を生成する工程、および
（c）前記溶解液からリボソームを精製する工程。
- [請求項12] 以下（a）および（b）に記載の工程を含む、リボソームの製造方法；
（a）マグネシウムイオン濃度が5 mM以下の条件下において、フレンチプレスを使用して、野生型大腸菌の培養物から溶解液を生成する工程、および、
（b）前記溶解液からリボソームを精製する工程。
- [請求項13] 請求項8に記載の改変されたL31タンパク質を含むリボソーム。
- [請求項14] 請求項13に記載のリボソームを含む組成物。
- [請求項15] 以下の工程を含む、無細胞翻訳系の製造方法；
（a）請求項11または12に記載の方法によりリボソームを製造する工程、および

(b) 前記リボソームを、非天然アミノ酸がアシル化された開始tRNAと混合する工程。