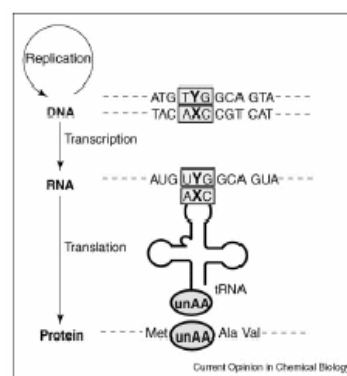


ディビジョン番号	8
ディビジョン名	生体関連化学・バイオテクノロジー

大項目	1. 生体関連化学
中項目	1-3. タンパク質化学・タンパク質工学
小項目	1-3-7. 人工コドン

概要（200字以内）

タンパク質翻訳過程で mRNA を構成する核酸塩基は 4 種類、tRNA に対応するコドンは 3 塩基である。人工コドンとは、コドンを構成する塩基を人工核酸に置換（右図）、または塩基数を 4 塩基に拡張させた非天然型コドンを意味する。機能性成分をタンパク質の目的部位に導入できる技術に発展させることで、タンパク質のフォールディング過程や相互作用解析等の基礎面、診断や創薬等の応用面での利用が期待されている。



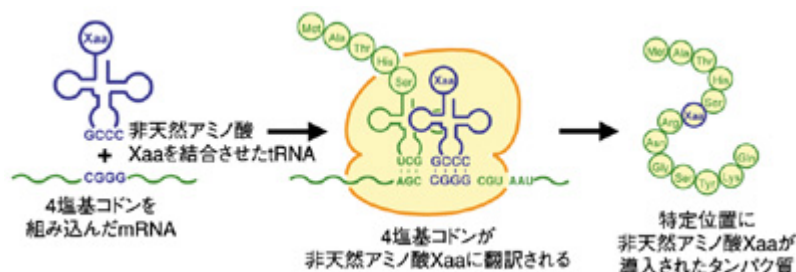
現状と最前線

1970 年代前半以降、遺伝子組換え技術が発達し、部位特異的塩基置換によりコドンを変換し、タンパク質を構成するアミノ酸残基を自由に置換する技術が確立された。80 年代初めには、タンパク質の分子構造と機能の相関を背景として一定基準に基づいてアミノ酸置換を行い、タンパク質機能を人為的に改変する技術が「タンパク質工学」と定義された。80 年代は同時に、合成化学技術の発展を DNA 合成機が後押しする形で、遺伝子を構成する塩基を人工的に合成し、将来的には複製、転写、翻訳の過程を遂行できる非天然型の「人工塩基対」、「人工コドン」を開発する試みが始まった。1989 年に、Benner らが isoguanine と isocytosine, xanthosin と 5-(2,4-diaminopyrimidine) による非天然型の水素結合による塩基対をデザインした。1998 年に Kool らは、4-methylbenzimidazole と difluorotoluene との間で、水素結合を持たないが A-T 塩基対に類似の構造が DNA ポリメラーゼによって認識される事を示し、塩基対形成において水素結合は必須ではなく、構造的相補性(shape complementarity)が重要な事を示した。人工塩基対の研究は大別すると、水素結合重視 (Benner ら) と、疎水性相互作用に代表される非水素結合型塩基対によるアプローチ (Kool ら、Rosemberg ら) に分けられる。競争の激しい当該分野において、国内の平尾らは国際的に高く評価されており、2006 年 7-(2-thienyl)-imidazo[4,5-b]pyridine と pyrrole-2-carbaldehyde が互いの分子の形に由来するフィッティングで対を作り、複製や転写においても機能することを明らかにしている。

しかし現状では、「人工塩基対」を基に「人工コドン」をデザインし、翻訳系にまで発展できている例は報告されていない(文献 1)。

コドン拡張することでタンパク質に部位特異的に非天然アミノ酸や蛍光色素などの機能性分子を導入することができれば、タンパク質工学によってデザインできる分子の種類は飛躍的に多くなる（拡張遺伝子工学）。非天然アミノ酸をタンパク質に導入した例としては、終止コドン(UAG)を利用した Schultz らや Chamberlin らの研究があるが、終結因子との競合により

非天然アミノ酸の導入効率が低くなる欠点があった。芳坂らは、遺伝子上で非天然アミノ酸を導入する部位のコドンを4塩基コドンに置換し、これに対応する4



塩基のアンチコドンを持ち、かつ非天然アミノ酸を化学的に結合させた tRNA を合成、大腸菌などの抽出液を用いた無細胞翻訳系へ加えると、4塩基コドンが4塩基アンチコドンを持った tRNA に読み取られることで、非天然アミノ酸が特定部位に導入される手法を開発した（上図：例として4塩基コドンGCCCを用いている）。2種類の異なる4塩基コドンと対応する tRNA で、タンパク質中に2種類の非天然アミノ酸を導入することも可能であり、蛍光エネルギー移動 (FRET) 等を用いることもできる（文献 2）。一方、Schultz らは、生体システムを巧みに利用して、原核・真核生物の両方における細胞内での非天然アミノ酸導入方法について報告している（文献 3）。将来的に「人工コドン」が細胞内で機能するようになれば、生物を自由に設計しようとする「合成生物学」が急進展し多くの利点をもたらすであろうが、その反面、安全・倫理面での問題が起こる可能性も否定できない。

【1】 Hirao, I., Curr Opin Chem Biol. 10:622-627 (2006)
 【2】 Kajihara, D. et al., Nat Methods. 3:923-929 (2006)
 【3】 Xie, J, Schultz PG., Nat Rev Mol Cell Biol. 7:775-782 (2006)

将来予測と方向性

- ・ **5年後までに解決・実現が望まれる課題**
- ・ 人工塩基対を用いた転写・翻訳過程、非天然アミノ酸導入方法の確立。・タンパク質の生体内イメージング、有用物質のハイスループット探索、疾患の診断、プロテオミクス、一分子観察などへの応用展開。
- ・ **10年後までに解決・実現が望まれる課題**
- ・ 非天然アミノ酸も含めた「タンパク質工学」による食品・医療・環境面での貢献・偶然あるいは故意による強力な毒劇物出現の可能性・「合成生物学」に対する安全、倫理に関する規制
- ・ 「人工コドン」研究を通じ、天然型コドン出現の必然性やプロセスについての洞察。

キーワード

人工塩基対・拡張コドン・非天然アミノ酸・合成生物学

(執筆者：高木 昌宏)