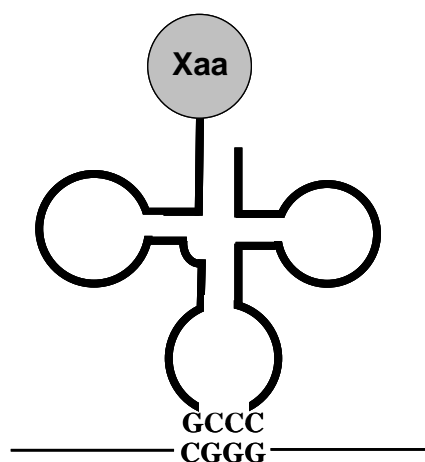


ディビジョン番号	8
ディビジョン名	生体機能関連化学・バイオテクノロジー

大項目	1. 生体機能関連化学
中項目	1-3. タンパク質化学・タンパク質工学
小項目	1-3-8. 人工コドン

概要（200字以内）

20種類の天然アミノ酸以外のアミノ酸を組み込んだタンパク質を合成するには、(1) Amber コドンを利用する方法、(2) 4塩基認識 tRNA を作成し、4塩基を使った新しいコドンを作る方法、(3) 新しい塩基対を開発する方法、などがある。(1)と(2)については既に実用レベルに達している。新しい塩基対の開発も進んでいる。また、関連する tRNA のアミノアシル化と In vitro タンパク質合成系の技術開発の進捗も著しい。



現状と最前線

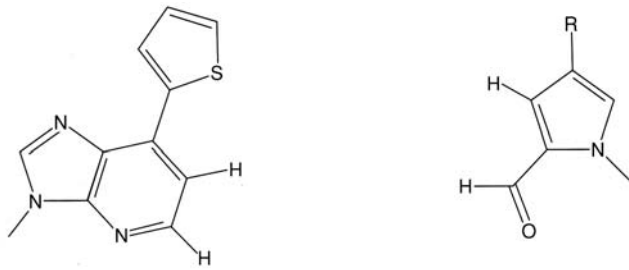
Amberコドンを利用する手法については、スクリップス研究所のP.G. Shultz博士らが開発を進めており、CHO細胞で6種類の非天然型アミノ酸を含むGFPの合成に成功している。彼らは、大腸菌のアミノアシルtRNA合成酵素を酵母中で分子進化させることにより、目的の非天然型アミノ酸でAmber suppressor tRNAを効率よくアミノアシル化できるようにしている。4塩基認識を用いた手法では、岡山大学の宍戸教授、北陸先端科学技術大学院大学の芳坂准教授らの研究は実用化に近づきつつある。宍戸らは、RNAと対合する人工核酸を用いると、tRNAへのアミノアシル化を酵素の助けなしで行うことができることを見出した。さらに、非天然アミノ酸を効率良くタンパク質に導入するためにtRNAの構造の最適化などを進めている。一方、芳坂らは、2つの4文字遺伝暗号を同時に用いることで、2種類の蛍光基をタンパク質の指定した位置へ組み込む手法を確立した。この手法を用いて、タンパク質の立体構造変化をFRETにより計測できることを示している。新しい塩基対の開発については、理化学研究所の平尾らの研究が注目されている。非天然型塩基である7-(2-thienyl)-imidazo[4,5-b]pyridine (Ds) と pyrrole-2-carbaldehyde (Pa) (図) が疎水性で普通の塩基とは水素結合を形成せず、相互に選択

的に塩基対を形成した。さらに複製と転写が可能であり、99.8%以上の選択性で Ds-Pa 塩基対が保存されていた。非天然型アミノ酸を組み込んだタンパク質の創製には、tRNA や非天然型アミノ酸などの導入や非特異的反応を減らすことなどが必要であり、in vitro でのタンパク質合成が有利である。わが国は、in vitro タンパク質合成に関する技術で世界をリードしていることから、人工コドンを用いたタンパク質創製でもわが国は Advantage があると考えて良い。

参考文献

Hirao I., Unnatural base pair systems for DNA/RNA-based biotechnology, *Curr Opin Chem Biol.* (2006) 622-627

図 人工塩基 Ds (左) と Pa(右)



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
 - 非天然アミノ酸の効率的かつ特異的アミノアシル化技術の開発
 - Amber コドンまたは 4 塩基コドンを用いた非天然アミノ酸を導入したタンパク質の大量生産
 - 人工塩基を用いた複数の非天然アミノ酸の導入技術の開発
- ・ 10年後までに解決・実現が望まれる課題
 - 人工コドンを用いた非天然タンパク質を含む人工タンパク質の実用化

キーワード

4 塩基認識 tRNA、非天然アミノ酸、人工塩基、in vitro タンパク質合成

(執筆者： 養王田 正文)