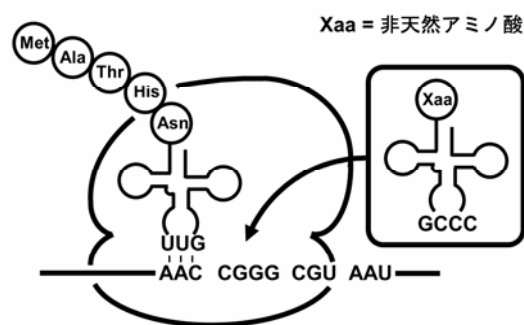


ディビジョン番号	8
ディビジョン名	生体機能関連化学・バイオテクノロジー

大項目	1. 生体機能関連化学
中項目	1-7. 遺伝子工学
小項目	1-7-4. 人工コドン

概要（200字以内）

人工コドンには主に終止コドン、4塩基コドン、人工塩基コドンがあり、それにより化学合成した非天然アミノ酸をタンパク質の特定部位へ導入することが可能になる。タンパク質の人工機能化や構造機能解析への応用も含め、現在米国と日本を中心に活発に研究が進められている。無細胞翻訳系だけでなく細胞内での非天然アミノ酸導入タンパク質の大量発現も可能になってきており、将来的に産業および医療への応用も期待されている。



現状と最前線

生物が遺伝子からタンパク質合成を行なう際に使用する遺伝暗号はコドンと呼ばれており、それを人工的に改変したものが人工コドンである。人工コドンには主に、終止コドン、4塩基コドン、人工塩基コドンがある。これらを用いることで、タンパク質合成において生物が通常使用する20種類のアミノ酸以外に、化学合成した非天然アミノ酸をタンパク質の特定部位へ導入することが可能になる。

4塩基コドンを例に挙げてその原理を説明すると、まず非天然アミノ酸を導入したい部位のコドンを4塩基コドン（例えばCGGG）に置換した遺伝子を作製しておく。一方、4塩基コドンに相補的な4塩基のアンチコドンGCCGを持ち、非天然アミノ酸を付加したtRNAを化学的に合成する。これらが無細胞翻訳系に加えると、4塩基コドンが4塩基アンチコドンを持つtRNAに読み取られ、その

結果、非天然アミノ酸が導入されたタンパク質が合成される。この際、非天然アミノ酸が導入されない場合は読み枠がずれて、い

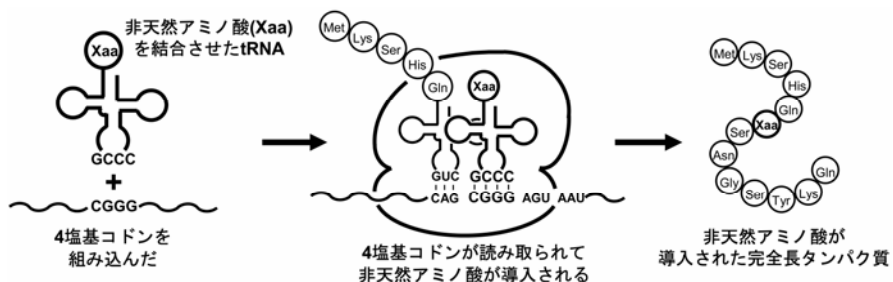


図 人工コドンとして4塩基コドンを使用した非天然アミノ酸のタンパク質への導入

れ下流の終止コドンによりタンパク質合成は途中で停止する。したがって、非天然アミノ酸が導入されたもののみが、完全長タンパク質として合成されることになる。また、4塩基コドンの代わりに終止コドンUAGを用いることも同様に可能である。一方、人工塩基コドンとしては、A-T（またはU）、G-C塩基対とは独立して塩基対を形成し、かつ、DNAポリメラーゼやRNAポリメラーゼの基質となる人工核酸塩基対が必要である。そのような人工塩基対は若干の例があるものの、現状ではまだ開発段階と言える。

これらの人工コドンの研究は、1989年に米国の2つの研究グループにより終止コドンを用いた非天然アミノ酸の導入が報告されたのを皮切りに、徐々に研究報告が増えている。現在は、米国と日本を中心に20～30程度の研究グループが活発に研究を進めている。

人工コドンおよびそれを用いた非天然アミノ酸の導入技術は、タンパク質の人工機能化や構造機能解析に応用されている。例えば、光応答性分子を側鎖に持つ非天然アミノ酸の導入によるタンパク質機能の光制御や、蛍光標識分子を側鎖に持つアミノ酸の導入によるタンパク質の部位特異的蛍光標識、安定同位体標識されたアミノ酸の導入によるNMRによるタンパク質の立体構造解析、などが実現されている。また、非天然アミノ酸を含むペプチドライブラリーを構築しておき、任意の分子に結合できる非天然ペプチドを取得する技術も開発され、将来的に医薬としての応用も期待される。

人工コドンの使用は当初は無細胞翻訳系に限定されており、そのために非天然アミノ酸を導入したタンパク質の合成量が低いという問題があった。しかし、近年は細胞内での翻訳においても使用できるようになってきており、その場合は通常の天然タンパク質と同等の合成量が得られる。これは、人工コドン認識用tRNAに非天然アミノ酸を付加することのできるアミノアシルtRNA合成酵素変異体により実現されており、既に数十種類の非天然アミノ酸について報告例がある。これにより、大量の非天然アミノ酸導入タンパク質が必要とされる産業や医療への応用に道が開かれた。

#### 参考文献

芳坂貴弘, 遺伝暗号を拡張した人工タンパク質合成システム, 現代化学, 2007, 430, 58-62.

#### 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

非天然アミノ酸導入技術のタンパク質基礎研究分野での実用化と普及  
非天然アミノ酸を導入したタンパク質医薬・診断薬、産業用酵素の開発  
非天然アミノ酸のみからなる非天然ペプチド医薬の開発

- ・10年後までに解決・実現が望まれる課題

非天然アミノ酸を導入したタンパク質医薬・診断薬、産業用酵素の細胞内発現系を用いた生産  
非天然アミノ酸を導入した非天然ペプチド医薬の実用化

#### キーワード

非天然アミノ酸、タンパク質、tRNA、遺伝暗号、無細胞翻訳系

(執筆者：芳坂 貴弘)