非天然アミノ酸を導入したタンパク質

芳坂 貴弘

タンパク質は、DNA の遺伝情報に従って 20 種類のアミノ酸が順次連結して合成された生体高分子である。しかし、遺伝子工学の手法を用いることで、タンパク質中の特定のアミノ酸を別のものに置き換えることや、まったく新しいアミノ酸配列をもったタンパク質を合成することも可能になっている。ただし、ここで用いることができるのは、天然に存在する 20 種類のアミノ酸のみであり、化学者が扱うさまざまな分子を直接タンパク質へ組み込むことは従来不可能であった。

近年、非天然アミノ酸のタンパク質への導入技術が開発され、天然には存在しないさまざまな側鎖をもった「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っている。図 1 には、筆者らが開発した 4 塩基コドンによる非天然アミノ酸導入法の概略を示している¹⁾。まず、合成したいタンパク質の遺伝子上で、非天然アミノ酸を導入したい部位のコドン (3 つ並びの核酸塩基) を 4 塩基に拡張したコドン「4 塩基コドン」(図では CGGG) に置換する。一方、この 4 塩基コドンに相補的な 4 塩基アンチコドン (図では CCCG) をもったトランスファー RNA (tRNA) を作製し、その 3' 末端に非天然アミノ酸を結合させておく。これを、4 塩基コドンを組み込んだ遺伝子とともに無細胞翻訳系へ加えると、4 塩基コドンに置換した部分が非天然アミノ酸に翻訳され、それ以外の部分では通常どおり 3 塩基のコドンが天然アミノ酸に翻訳される。その結果、目的部位にのみ非天然アミノ酸が導入されたタンパク質を得ることができる。なお、非天然アミノ酸を指定するコドンとしては、4 塩基コドンのほかにも終止コドンのひとつであるアンバーコドン TAG が利用されている²⁾。また最近、A, T, G, C 以外の非天然核酸塩基対が開発されており、それをういた方法も検討されている³⁾。

非天然アミノ酸を導入することで、タンパク質に新たな

図 2 タンパク質へ導入された非天然アミノ酸の例

機能を付与することも可能である。たとえば、フォトクロミック化合物であるアゾベンゼンをもった非天然アミノ酸 (図 2(1)) を、西洋ワサビペルオキシダーゼの活性中心近傍に導入した場合、アゾベンゼンのトランス・シス光異性化に伴って、酵素の活性を光で制御できることが示された⁴⁾。また、蛍光プローブをもった非天然アミノ酸 (2) や (3) を、ビオチン結合タンパク質であるストレプトアビジンへ導入してその蛍光を測定することで、タンパク質の局所環境を調べることもできた⁵⁾。さらに、緑色蛍光を発する蛍光標識アミノ酸 (4) を新たに設計・合成し、タンパク質へ導入することにも成功している。このような標識アミノ酸の導入は、ゲノム解析によって新たに見いだされたタンパク質の構造・機能解析に今後有用となると期待されている。

文 献

- 1) T. Hoshaka, D. Kajihara, Y. Ashizuka, H. Murakami, M. Sisido: *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 34 (1999)
- 2) V. W. Cornish, D. Mendel, P. G. Schultz: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **34**, 621 (1995)
- 3) I. Hirao, *et al.*: *Nat. Biotechnol.*, **20**, 177 (2002)
- 4) N. Muranaka, T. Hoshaka, M. Sisido: *FEBS Lett.*, **510**, 10 (2002)
- 5) H. Murakami, T. Hoshaka, Y. Ashizuka, K. Hashimoto, M. Sisido: *Biomacromolecules*, **1**, 118 (2000)
- 6) T. Hoshaka, *et al.*: *FEBS Lett.*, **560**, 173 (2004)

図 1 4 塩基コドンによる非天然アミノ酸のタンパク質への導入法

HOHSAKA, Takahiro 北陸先端科学技術大学院大学材料科学研究科機能科学専攻・助教授, 博士(工学)。専門は拡張遺伝子工学, Protein Containing Nonnatural Amino Acid