

発表番号：4J002

発表日時：3月30日 14:15～15:15、発表場所：ポスター会場エリアJ

大腸菌コドン再定義株を用いた二種非天然型アミノ酸同時導入法の開発

Development of a novel platform for enzyme engineering with multiple nonnatural amino acids

○大竹 和正¹、春名 健一²、坂本 健作¹ (¹理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター、²味の素 イノベーション研究所)

○Kazumasa OHTAKE¹, Kenichi HARUNA², Kensaku SAKAMOTO¹ (¹RIKEN CLST, ²AJINOMOTO Inst. for Innovation)

われわれは、これまでに大腸菌のゲノムエンジニアリングを通して翻訳終結因子1(RF-1)遺伝子破壊株の作製を可能にし、UAG終止コドンの意味を非天然型アミノ酸へと再定義することに成功している^{1,2}(図中央)。RF-1遺伝子破壊株を用いることにより既存の方法(図左)では実現することの出来なかった部位特異的かつ多数箇所へと非天然型アミノ酸を導入したタンパク質の生産が可能になった。実際にタンパク質中の多数箇所にハロゲン化チロシンを導入することにより、タンパク質の安定化が可能であることを報告している³。また、大腸菌における最も使用頻度の低いセンスコドンであるAGGアルギニンコドンを限定された条件下ではあるが非天然型アミノ酸へと再定義できることも報告した⁴。これらの知見を融合することにより、本研究ではUAGコドンとAGGコドンを異なる非天然型アミノ酸へと定義し、二種類の非天然型アミノ酸をタンパク質へと導入することを目的としている(図右)。本発表では、ハロゲン化チロシンを導入して安定化した有用な酵素を、 α -ヒドロキシ酸を用いてタグ配列の除去及び活性化を行う手法について、最新の研究結果を報告する。

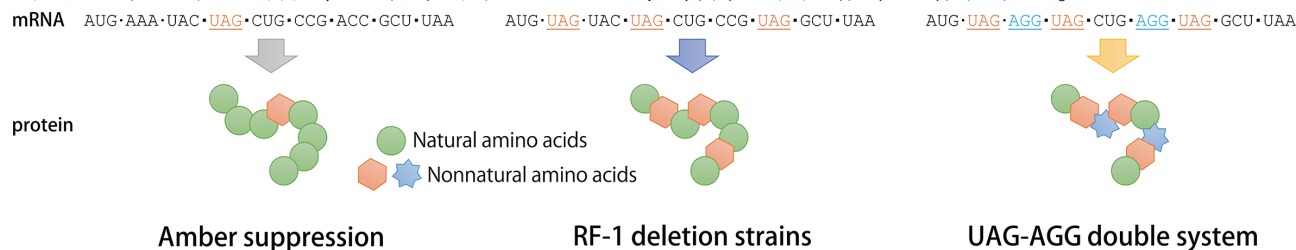


図 本研究における各株でのタンパク質翻訳(概念図)

1. Mukai, T. et al., "Codon reassignment in the *Escherichia coli* genetic code"
Nucleic Acids Res. 2010, 38 (22), 8188-95
2. Mukai, T. et al., "Highly reproductive *Escherichia coli* cells with a blank assignment for the UAG codon"
Sci. Rep. 2015, 5, 9699
3. Ohtake, K. et al., "Protein stabilization utilizing a redefined codon"
Sci. Rep. 2015, 5, 9762
4. Mukai, T. et al., "Reassignment of a rare sense codon to a non-canonical amino acid in *Escherichia coli*"
Nucleic Acids Res. 2015, 43(16), 8111-22

Protein engineering, Nonnatural amino acid, Codon reassignment

発表責任者：大竹 和正 (kazumasa.ohtake@riken.jp)