



配布先: 文部科学記者会、科学記者会、名古屋教育記者会

2024 年 5 月 20 日

報道機関 各位

Ser/Leu 入換え遺伝暗号の開発 ～遺伝子組み換え時のバイオハザードリスクの解消～

【本研究のポイント】

- ・ セリン(Ser)とロイシン(Leu)を入れ換えた遺伝暗号を持つ無細胞翻訳系^{注1)}を開発
- ・ 遺伝子漏洩に伴うバイオハザードリスクの無い安全なタンパク質合成
- ・ Ser/Leu 入換え遺伝暗号を持つ新たな生物のモデル

【研究概要】

名古屋大学大学院工学研究科の村上 裕 教授、藤野 公茂 助教、同大学トランスフォーマティブ生命分子研究所の三城 恵美 特任講師らの研究グループは、セリン(Ser)とロイシン(Leu)を入れ換えた遺伝暗号を持つ無細胞翻訳系を開発しました。

Ser/Leu 入換え遺伝子进行設計することで、Ser/Leu 入換え遺伝暗号を持つ翻訳系では正しく目的のタンパク質へと翻訳合成される一方で、普遍遺伝暗号^{注2)}を持つ通常の生物では不活性となる、バイオハザードリスクの無い遺伝子の設計が可能になります。本研究では、相互にアンチコドンを入れ換えたキメラ tRNA と、一部の tRNA を欠失した天然 tRNA のハイブリッドを使用することで、Ser/Leu 入換え遺伝暗号を簡便に構築し、入換え遺伝子から機能性タンパク質の合成に成功しました。

本研究で開発した Ser/Leu 入換え遺伝暗号に基づく無細胞翻訳系は、遺伝子漏洩に伴うバイオハザードリスクの無いタンパク質合成系として、今後の利用が期待されます。また、この翻訳系は、Ser/Leu 入換え遺伝暗号を持つ新たな生物のモデルとなると考えられています。

本研究成果は、2024 年 5 月 16 日付イギリス科学雑誌「Nature Communications」にオンライン掲載されました。



【研究背景と内容】

遺伝子組み換えは、様々な研究・産業分野での利用が進められています。その際、組み換え遺伝子が環境中の生物へと拡散するのを防ぐ仕組みは非常に重要です。

我々は、Ser/Leu 入換え遺伝暗号を開発することで、この課題に取り組んできました。この遺伝暗号では、相互にアンチコドンを入れ換えたキメラ tRNA を利用することで、本来セリン(Ser)に対応するコドンにロイシン(Leu)が、ロイシンに対応するコドンにセリンが導入されます。さらに、セリンとロイシンのコドンを入れ換えて配置した Ser/Leu 入換え遺伝子在设计することで、Ser/Leu 入換え遺伝暗号でのみ正しい配列のタンパク質へと翻訳される遺伝子設計が可能です。Ser/Leu 入換え遺伝子は、万が一環境中の生物に取り込まれても、普遍遺伝暗号のもとではセリンとロイシンが入れ換えられた配列に翻訳されるため、組み換えタンパク質が環境中で機能を持たず、バイオハザードリスクが無くなると考えられます(図1)。

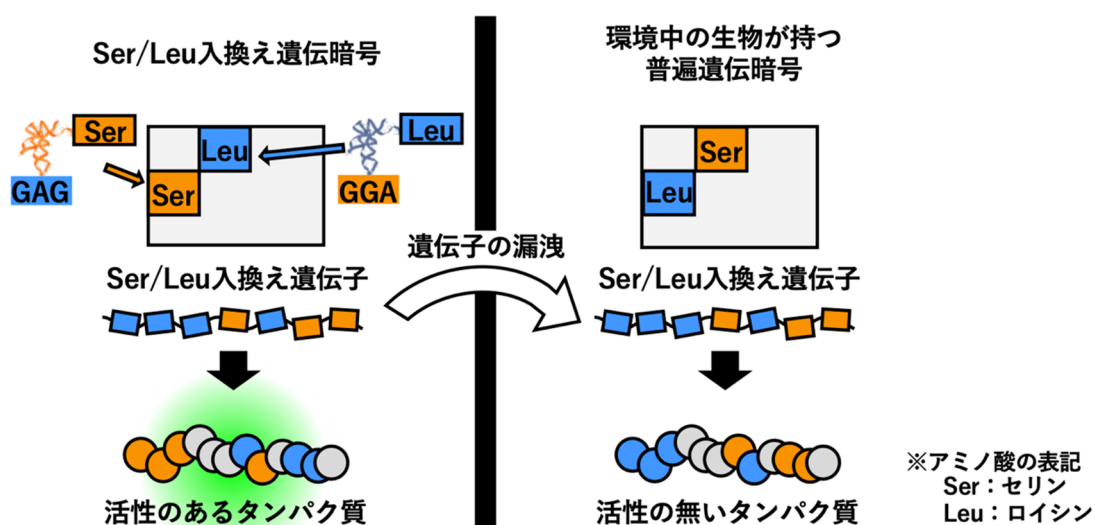


図1. Ser/Leu 入換え遺伝暗号により遺伝子が環境中へ漏洩した際のリスクを無くす仕組み

2020年に我々は、試験管内で調製した21種のtRNA^{注3)}と、再構成無細胞翻訳系を用いて、Ser/Leu入換え遺伝暗号のコンセプトを実証しました^{注4)}。しかし、試験管内調製tRNAは、天然のtRNAに比べて大きく活性が損われることから、非常に少量のタンパク質しか合成できませんでした。

そこで本研究では、試験管内で調製したキメラtRNAと、大腸菌から抽出した天然tRNAを組み合わせたハイブリッドtRNAを開発しました(図2)。これにより、Ser/Leu入換え遺伝暗号の構築に必要な試験管内調製tRNAの数を、21個から4個へと大幅に削減することができました。さらに、タンパク質合成活性についても、天然tRNAのみを使用した無細胞翻訳系と同程度まで改善することに成功しました(図3)。

また、本研究では、Ser/Leu入換え遺伝暗号における、SerとLeuの入換の正確性について、液体クロマトグラフィ質量分析^{注5)}を用いた定量的な解析を行いました。

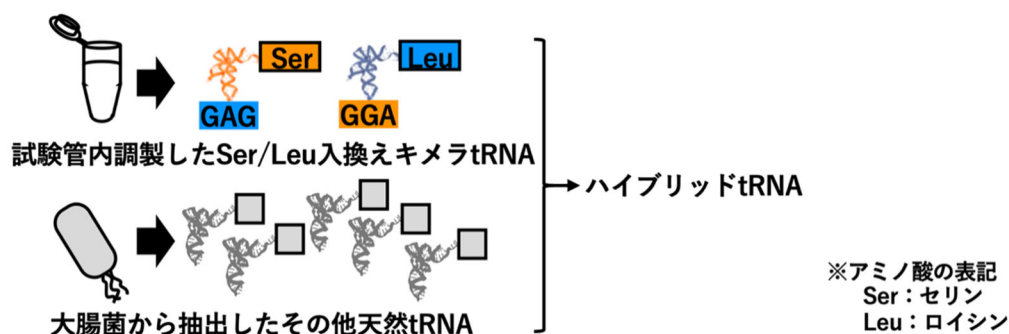


図2. ハイブリッド tRNA の調製

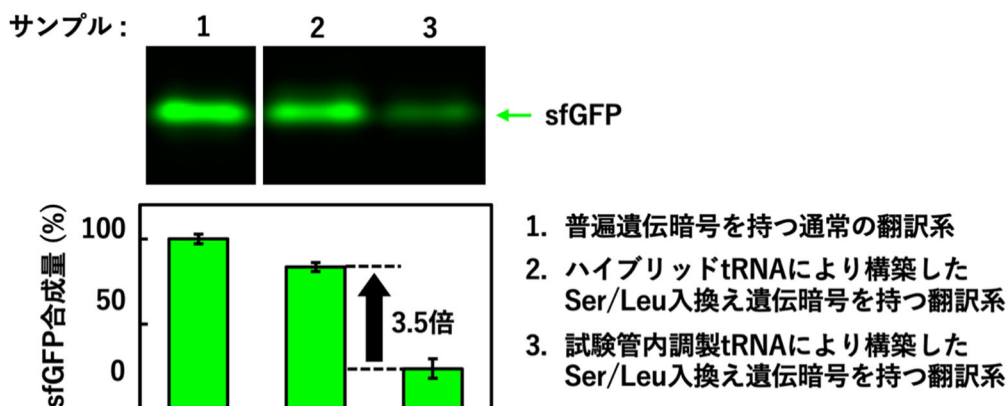


図3. Ser/Leu入換え遺伝暗号を持った無細胞翻訳系のタンパク質合成活性

【成果の意義】

本研究で開発された、Ser/Leu入換え遺伝暗号を持つ再構成無細胞翻訳系は、遺伝子漏洩に伴うバイオハザードリスクの無いタンパク質合成系として、今後の利用が期待されます。

また、我々の2020年の報告以降、Ser/Leu入換え遺伝暗号を実際の生物で構築する研究^{注6)}が始められており、実際に一部のコドンが改変された遺伝暗号を持つ大腸菌では、菌体間またはウイルスとの間での遺伝子の移動が防げられることが報告されていま

す。本研究の成果は、Ser/Leu 入換え遺伝暗号の、生物への実装に先駆けた無細胞のモデル系として、今後の研究に重要な知見を提供すると考えられます。

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業(23H05456, 21K05270)による支援のもとで実施されました。

【用語説明】

注 1) 無細胞翻訳系:

試験管内で行われる翻訳(タンパク質の生合成)反応系。

注 2) 普遍遺伝暗号:

ほぼ全ての生物が共通して使用している遺伝暗号。

注 3) 試験管内で調製した 21 種の tRNA:

RNA ポリメラーゼ(RNA 合成酵素)により試験管内で合成された tRNA。

注 4) 2020 年の研究:

Fujino, T. et al. An amino acid-swapped genetic code. *ACS Synthetic Biology* 9, 10, 2703–2713 (2020).

注 5) 液体クロマトグラフィ質量分析:

液体クロマトグラフィで分離した溶液中の成分を、質量分析で検出する手法。

注 6) Ser/Leu 入換え遺伝暗号を実際の生物で構築する研究:

Nyerges, A. et al. A swapped genetic code prevents viral infections and gene transfer. *Nature* 615, 720–727 (2023); Robertson, W. E. et al. Sense codon reassignment enables viral resistance and encoded polymer synthesis. *Science* 372, 1057–1062 (2021); Zürcher, J. F. et al. Refactored genetic codes enable bidirectional genetic isolation. *Science* 378, 516–523 (2022).

【論文情報】

雑誌名: Nature Communications

論文タイトル: Ser/Leu-swapped cell-free translation system constructed with natural/in vitro transcribed-hybrid tRNA set

著者: 藤野公茂¹, 園田凌吾¹, 東長田泰斗¹, 三城恵美², 加納圭子², 村上裕^{1,3*}

¹名古屋大学大学院工学研究科生命分子工学専攻

²名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所分子構造センター

³名古屋大学未来社会創造機構ナノライフシステム研究所

*責任著者

DOI: 10.1038/s41467-024-48056-z

URL: <https://www.nature.com/articles/s41467-024-48056-z>



東海国立大学機構は、岐阜大学と名古屋大学を運営する国立大学法人です。
国際的な競争力向上と地域創生への貢献を両輪とした発展を目指します。

東海国立大学機構 HP <https://www.thers.ac.jp/>

