

北陸先端科学技術大学院大学 研究室レポート

JAISTAR

Japan Advanced Institute of Science and Technology, Announcement of Researchers

Materials
Science

材料科学研究科
芳坂 研究室

遺伝暗号を拡張した 人工タンパク質合成システムの開発と応用

科学技術のフロンティアを拓く

JAIST
JAPAN
ADVANCED INSTITUTE OF
SCIENCE AND TECHNOLOGY
1990

北陸先端科学技術大学院大学

北陸先端科学技術大学院大学

材料科学研究科 芳坂 研究室 ● ● ●

遺伝暗号を拡張した 人工タンパク質合成システムの開発と応用。

オンリーワンの研究を支えるのは一瞬のひらめきと、繰り返す実験。

遺伝子暗号の原理に挑み、勝ち得た新しいバイオ技術を手

今日も生命の謎に対峙する。

School of
Materials Science

Hohsaka
Laboratory

3文字でつづるアミノ酸を 4文字に

『3年以内にも実用化できる収穫目前の研究—タンパク質の特異的蛍光標識—』(日経バイオビジネス03.06)、『日経バイオビジネス・注目のバイオ研究者2003』(同03.09)、『Bioベンチャー 新テクノロジーで躍進するDDS研究』(羊土社・現バイオテクノロジージャーナル2004.11-12月号)―。専門誌の常連であり、今最も注目を集める新進気鋭のバイオ系研究者のひとりが芳坂貴弘助教授である。タンパク質は20種類の限られた種類のアミノ酸から成る、そんな生命原理に挑み、生物の限界を超える結果を出すことに成功している。遺伝子工学が発展する中で、アミノ酸の置換が容易となり、生命の仕組みを支えるタンパク質を改造する技術も大きく進歩した。しかしその技術には限界があり、置換できるのはわずか20種類の天然アミノ酸に限定されている。これに対し芳坂助教授は、自然界には存在しない非天然アミノ酸を導入し、新たな機能を持つ人工タンパク質を作り出すという斬新なアイデアを打ち出した。通常のタンパク質合成では3つの核

酸塩基の並び(コドン)が、ひとつのアミノ酸に翻訳される。芳坂助教授はこれを4つの核酸塩基の並び“4塩基コドン”に拡張し、新たなアミノ酸に対応させることに世界で初めて成功。非天然アミノ酸をタンパク質の特定位置に導入する技術を開発している。

「生命科学の分野のネックとなるのは研究方法。私の役割はそこに新しい技術やアイデアを提供して、分野全体を進歩させる基盤技術を創っていくことだと思うんです」と語る芳坂助教授。ゲノム解析の終了とともにスタートしたプロテオミクスにおいて、芳坂研究室の技術の実用化が起爆剤となり、人間は生命の神秘にまた一步近づくことができるかもしれない。

応用化、事業化に向けた 複数のプロジェクト

4塩基コドンの基本技術を用いて、芳坂研究室ではさまざまな応用化技術の研究開発が行われている。

この技術を用いると、タンパク質の精密なナノ構造中に人工機能分子を自由に配置することができ、全く新しい機能を持った人工タンパク質の創製が可能になる。またタンパク質に蛍光標識アミノ酸、いわば“目印”をピンポイントで組み込むことにより、生物由来のタンパク質の構造と機能を調べるための新たな手法を創出することも可能だ。特定のタンパク質に作用する薬を開発する際にも有効であり、研究室ですでに製薬会社との共同研究を行っている。





医薬品の研究を サポートする技術を提供

遺伝情報からアミノ酸配列が読み出されタンパク質が生まれる過程を“翻訳”と呼ぶ。翻訳後のタンパク質が細胞の中で働くためにはさらに特定の部分にリン酸や糖鎖がつく“修飾”という過程を要する。たとえばガンはこの修飾語翻訳の仕組みが崩れて細胞が異常に増えることが原因で起こることが明らかになっているなど、翻訳後修飾は研究対象としても重要視されている。ところが従来の手法では修飾タンパク質を得ることは難しく、修飾量や修飾部位を制御することも容易ではない。研究室では現在企業と協同し、あらかじめ修飾したアミノ酸をタンパク質へ導入することで、この問題をクリアしようとするプロジェクトを推進している。企業等に研究材料として修飾化タンパク質を提供するという事業化も期待される。翻訳後修飾に限らず、このようにタンパク質の活性などを精密にコントロールする技術はドラッグデリバリーシステム(DDS)においても注目されている。活性や安定性を制御した修飾タンパク質はすでにDDSに利用されているが、タンパク質によっては不適切な部位に修飾が施されるなどして

活性が低下する場合もある。しかし4塩基コドンの技術を用いるとタンパク質の特定の場所に修飾することが可能である。医薬品開発に直結することもあり、研究室のオリジナルの技術は実用化に向けた大きな可能性を秘めていると芳坂助教授自身も実感している。

人の役に立つ研究がしたいと研究のポリシーを語る芳坂助教授。平成16年4月には、日本最大のバイオ・ビジネスコンペである「バイオビジネスコンペJAPAN」の最優秀賞を受賞した。研究室の技術の評価に加え、それを実用化する際のビジネスプランが高く評価されたのである。大学で得られた研究成果を社会還元し、これによって研究室も十分な研究費を獲

得し、またその成果を社会へ還元するという理想的な循環が、芳坂研究室を中心に巻き起こっている。



第4回バイオビジネスコンペJAPAN 最優秀賞受賞

受賞テーマ

拡張遺伝暗号により修飾化アミノ酸を部位特異的に導入したタンパク質の発現技術の開発とその応用



Research Interests

北陸先端科学技術大学院大学 材料科学研究科

助教授 芳坂 貴弘

Associate Professor Takahiro Hohsaka

芳坂研究室 材料科学棟II TEL:0761-51-1681 FAX:0761-51-1149
http://www.jaist.ac.jp/ms/labs/hohsaka/
E-mail hohsaka@jaist.ac.jp

主な研究テーマ

1) 4塩基コドンを用いた非天然アミノ酸のタンパク質への導入

タンパク質はDNAの遺伝情報に従ってアミノ酸が連なって合成され、それが精密な立体構造を形成することで、高度な機能を発揮しています。しかし生物が使用しているのはわずか20種類のアミノ酸のみです。私たちは、この20種類の制限を越えて、人工的に合成した「非天然アミノ酸」をタンパク質の特定部位に導入することのできる、新たな技術の開発に成功しています。これは、拡張遺伝暗号「4塩基コドン」に非天然アミノ酸を割り当て、という全く新しい概念によって達成されています。

さらにこの技術を利用することで、光応答性などの人工機能を持ったタンパク質の創製を行なっています。また、この技術の基礎となる新しい非天然アミノ酸や人工トランスファーRNA、人工メッセンジャーRNAの開発も行なっています。加えて、バイオベンチャー企業とも協力して、この技術の事業化を積極的に推進しています。

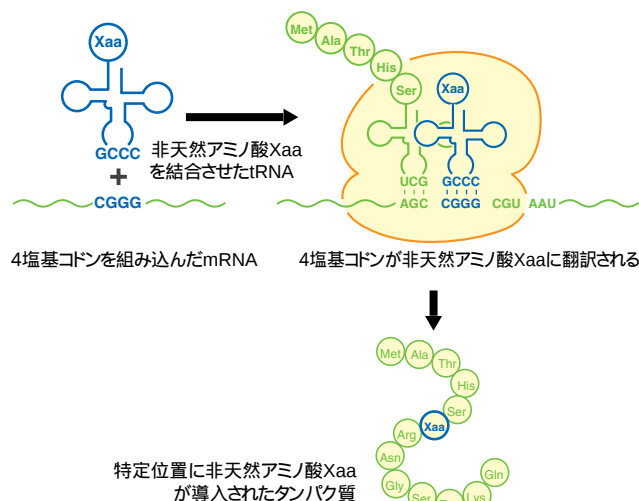
2) タンパク質の新規構造機能解析法の開発

上記タンパク質合成システムを利用して、蛍光プローブアミノ酸や蛍光標識アミノ酸などをタンパク質へ導入し、細胞外あるいは細胞内において、タンパク質がどこでどのような形でどのように機能しているのかを調べるための新規手法を開発しています。さらにその手法を、病気の原因となるタンパク質の発見やそれに対する薬剤開発にも応用しています。これは国内外の研究機関・企業との共同研究により進めています。

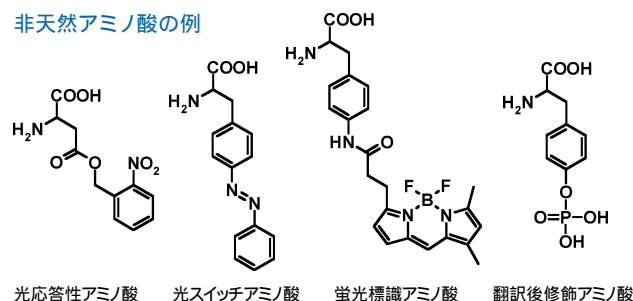
3) 生物の潜在能力を利用した新たなバイオ技術の開発

「4塩基コドン」のように、生物が持っている潜在能力は実は沢山あると考えられています。現在のDNA研究に不可欠なPCRやDNAシーケンシング技術も、生物が持つDNA複製機能の潜在能力を利用したものです。私たちは、そのような生物の潜在能力に基づいた新たなバイオ技術の開発にも挑戦し、生命化学の発展に貢献したいと考えています。

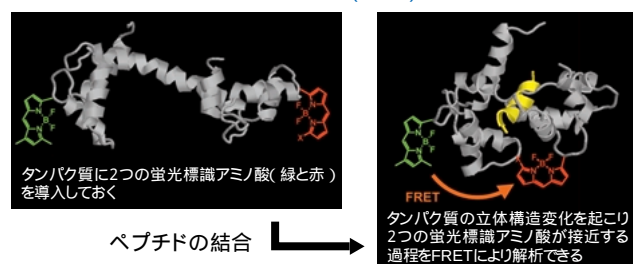
4塩基コドンを用いた非天然アミノ酸のタンパク質への導入法の開発



非天然アミノ酸の例



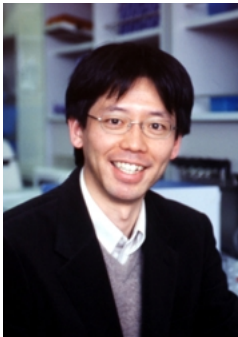
蛍光標識アミノ酸の導入によるタンパク質の構造機能解析 - 蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)による解析 -



使用装置 DNAシーケンサー、蛍光イメージアナライザー、リアルタイムPCR、超高感度蛍光測定装置、超微量分光光度計、LC/MS、HPLC、分子間相互作用測定装置

キーワード タンパク質、非天然アミノ酸、遺伝子工学

Faculty Profile



北陸先端科学技術大学院大学 材料科学研究科

助教 芳坂 貴弘

Associate Professor Takahiro Hohsaka

< 学位 >

東京工業大学工学士(1992)、東京工業大学修士(工学)(1994)、
東京工業大学博士(工学)(2002)

< 職歴 >

岡山大学工学部助手(1994-2003)、北陸先端科学技術大学院大学
材料科学研究科助教授(2003-)、科学技術振興機構さきがけ研究
者(併任)(2002-)

芳坂研究室 材料科学棟II TEL:0761-51-1681 FAX:0761-51-1149
http://www.jaist.ac.jp/ms/labs/hohsaka/ E-mail hohsaka@jaist.ac.jp

専門

拡張遺伝子工学 生体高分子科学 化学生物学

主な研究課題

遺伝暗号を拡張した人工タンパク質合成システムの開発と応用

生体内のタンパク質合成では、遺伝子上の三つ並びの核酸塩基(コドン)が、遺伝暗号表で決められた1つのアミノ酸へ翻訳されている。私達はコドンを四つ並びに拡張した「4塩基コドン」を用いて、天然には存在しないアミノ酸「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のできる新たなタンパク質合成システムの開発に成功している。このシステムを基礎として、以下に示す新しいタンパク質改変技術の開発とその応用展開を試みている。

- ・非天然アミノ酸導入技術の高効率化
- ・蛍光標識アミノ酸の導入によるタンパク質の構造機能解析技術の開発
- ・修飾アミノ酸のタンパク質への導入技術の開発
- ・部位特異的変異導入のための新技術の開発

主な著書・論文・講演発表

- ・ Incorporation of Nonnatural Amino Acids into Proteins through Extension of the Genetic Code, Takahiro Hohsaka, Bull. Chem. Soc. Jpn., 77, 1041-1049, 2004.
- ・ Position-Specific Incorporation of Dansylated Non-natural Amino Acids into Streptavidin by using a Four-Base Codon, Takahiro Hohsaka, Norihito Muranaka, Chie Komiya, Kinue Matsui, Satomi Takaura, Ryoji Abe, Hiroshi Murakami, Masahiko Sisido, FEBS Lett., 560, 173-177, 2004.
- ・ Incorporation of Non-natural Amino Acids into Proteins, Takahiro Hohsaka, Masahiko Sisido, Curr. Opin. Chem. Biol., 6, 809-815, 2002.
- ・ Position-Specific Incorporation of a Fluorophore-Quencher Pair into a Single Streptavidin through Orthogonal Four-Base Codon/Anticodon Pairs Masumi Taki, Takahiro Hohsaka, Hiroshi Murakami, Kazunari Taira, Masahiko Sisido, J. Am. Chem. Soc., 124, 14586-14590, 2002.
- ・ Random Insertion and Deletion of Arbitrary Number of Bases for Codon-Based Random Mutation of DNAs, Hiroshi Murakami, Takahiro Hohsaka, Masahiko Sisido, Nat. Biotechnol., 20, 76-81, 2002.
- ・ Photoswitching of Peroxidase Activity by Position-Specific Incorporation of a Photoisomerizable Nonnatural Amino Acid into Horseradish Peroxidase, Norihito Muranaka, Takahiro Hohsaka, Masahiko Sisido, FEBS Lett., 510, 10-12, 2002.
- ・ Five-Base Codons for Incorporation of Nonnatural Amino Acids into Proteins, Takahiro Hohsaka, Yuki Ashizuka, Hiroshi Murakami, Masahiko Sisido, Nucleic Acids Res., 29, 3646-3651, 2001.
- ・ Incorporation of Nonnatural Amino Acids into Proteins by Using Various Four-Base Codons in an E. coli in vitro Translation System, Takahiro Hohsaka, Yuki Ashizuka, Hikaru Taira, Hiroshi Murakami, Masahiko Sisido, Biochemistry, 40, 11060-11064, 2001.
- ・ Sense Codon-Dependent Introduction of Unnatural Amino Acids into Multiple Sites of a Protein, Takayuki Kanda, Kazuyuki Takai, Takahiro Hohsaka, Masahiko Sisido, Hiroshi Takaku, Biochem. Biophys. Res. Commun., 270, 1136-1139, 2000.

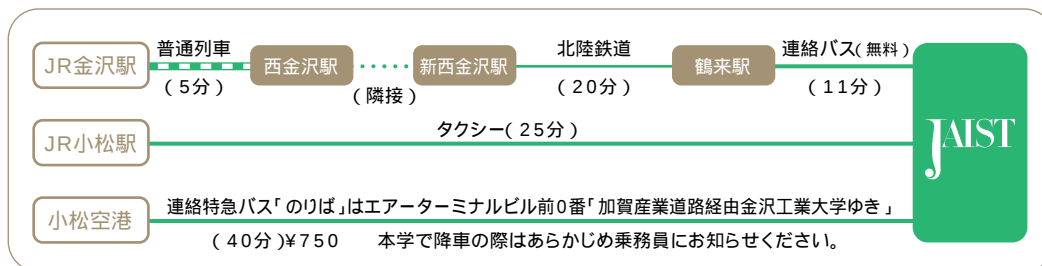
- ・ Site-Directed Incorporation of Fluorescent Nonnatural Amino Acids into Streptavidin for Highly Sensitive Detection of Biotin, Hiroshi Murakami, Takahiro Hohsaka, Yuki Ashizuka, Kimiko Hashimoto, Masahiko Sisido, Biomacromolecules, 1, 118-125, 2000.
- ・ Incorporation of Two Different Nonnatural Amino Acids Independently into a Single Protein through Extension of the Genetic Code, Takahiro Hohsaka, Yuki Ashizuka, Hiroshi Sasaki, Hiroshi Murakami, Masahiko Sisido, J. Am. Chem. Soc., 121, 12194-12195, 1999.
- ・ Efficient Incorporation of Nonnatural Amino Acids with Large Aromatic Groups into Streptavidin in In Vitro Protein Synthesizing Systems, Takahiro Hohsaka, Daisuke Kajihara, Yuki Ashizuka, Hiroshi Murakami, Masahiko Sisido, J. Am. Chem. Soc., 121, 34-40, 1999.
- ・ Site-Directed Incorporation of p-Nitrophenylalanine into Streptavidin and Site-to-Site Photoinduced Electron Transfer from a Pyrenyl Group to a Nitrophenyl Group on the Protein Framework, Hiroshi Murakami, Takahiro Hohsaka, Yuki Ashizuka, Masahiko Sisido, J. Am. Chem. Soc., 120, 7520-7529, 1998.
- ・ Incorporation of Nonnatural Amino Acids into Streptavidin through In Vitro Frame-Shift Suppression, Takahiro Hohsaka, Yuki Ashizuka, Hiroshi Murakami, Masahiko Sisido, J. Am. Chem. Soc., 118, 9778-9779, 1996.
- ・ 人工タンパク質, 芳坂貴弘, 高分子新素材のすべて(國武豊喜監修)第2章 バイオ高分子素材, 工業調査会, 138-141, 2005.
- ・ DDS研究のためのタンパク質工学技術～遺伝暗号の拡張による非天然型アミノ酸のタンパク質への導入～, 芳坂貴弘, Bioベンチャー, 4(6), 69-71, 2004.
- ・ 遺伝暗号を拡張して新しいタンパク質をつくる, 芳坂貴弘, 現代化学, 397, 24-29, 2004.
- ・ 新規変異タンパク質創出のためのランダム挿入削除変異法, 村上裕, 芳坂貴弘, 穴戸昌彦, Bioベンチャー, 2(4), 94-97, 2002.
- ・ 人工コドン, 芳坂貴弘, 穴戸昌彦, 生命化学のニューセントラルドグマ(杉本直己編)第9章, 化学同人, 96-103, 2002.
- ・ 遺伝暗号を拡張した人工タンパク質合成システムー化学と遺伝子工学の融合を目指してー, 芳坂 貴弘, 化学と工業, 53, 169-172, 2000.

国際貢献・国内貢献等

- ・ 日本化学会, 1994 -
- ・ 高分子学会, 1994 -
- ・ 日本生化学会, 1997 -
- ・ 日本分子生物学会, 2002 -
- ・ 第4回バイオビジネスコンペJAPAN最優秀賞, バイオビジネスコンペJAPAN実行委員会, 2004.4.15
- ・ ゴールドメダル, 東京テクノフォーラム21, 2003.4.16
- ・ 日本化学会進歩賞, 日本化学会, 2002

共同研究の希望テーマ

- ・ 無細胞翻訳系を用いた人工タンパク質の開発
(Development of Artificial Proteins containing Nonnatural Amino Acids using Cell-free translation Systems)



JAPAN ADVANCED INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

国立大学法人 **北陸先端科学技術大学院大学**

〒923-1292 石川県能美市旭台1-1 TEL:0761-51-1111(代表)
<http://www.jaist.ac.jp/index-jp.html>

産学連携に関するお問い合わせ

先端科学技術研究調査センター

TEL 0761-51-1070 FAX 0761-51-1944

E-mail ricenter@jaist.ac.jp HPアドレス <http://www.jaist.ac.jp/ricenter/index.html>

学術協力課 連携推進室 産学連携係

TEL 0761-51-1906 FAX 0761-51-1919 E-mail renkei@jaist.ac.jp

平成18年度4月より、材料科学研究科は「マテリアルサイエンス研究科」に名称変更する予定です。

芳坂研究室

TEL:0761-51-1681 FAX:0761-51-1149

<http://www.jaist.ac.jp/ms/labs/hohsaka/> E-mail hohsaka@jaist.ac.jp