

【本件リリース先】

九州大学記者クラブ

広島大学関係報道機関



九州大学



広島大学

平成 25 年 4 月 24 日

国立大学法人 九州大学

国立大学法人 広島大学

## PPR 蛋白質の核酸認識コードの解読に成功

### —任意の RNA または DNA 配列に結合する蛋白質の開発が可能に—

#### 【概要】

九州大学大学院農学研究院の中村崇裕准教授は、医学研究院の大川恭行准教授、広島大学大学院理学研究科の山本卓教授との共同研究で、PPR 蛋白質の RNA および DNA 認識コードの解明に成功しました。

RNA または DNA と配列特異的に結合する PPR 蛋白質は 35 アミノ酸の「PPR モチーフ (※1)」十数個の連続で構成されています。今回の共同研究により、以下のことを発見しました。

- ・ PPR モチーフと塩基が 1 対 1 で対応すること。
- ・ 連続した PPR モチーフが核酸配列中の連続した塩基を認識すること。
- ・ モチーフ中の 3 か所のアミノ酸で結合塩基を指定すること。
- ・ 結合塩基を予測、設計可能であること。
- ・ DNA または RNA の両方に適用可能であること。

この PPR 蛋白質の核酸認識コードの解読により、任意の RNA または DNA 配列に結合する蛋白質の開発が可能になりました。今後、医療、農林水産業などの様々な生物系産業への利用が期待されます。

なお、RNA 結合型 PPR 蛋白質に関しては、PCT/JP2012/077274 (平成 24 年 10 月 22 日出願)、DNA 結合型 PPR 蛋白質に関しては、特願 2013-89840 (平成 25 年 4 月 22 日出願) として、特許を出願しました。

#### 【背景】

様々な生物のゲノム情報が明らかになり、その利用による研究技術の開発、医療への応用、有用な農作物の開発などが盛んに行われています。しかし、多くの生物において、ゲノム中の目的遺伝子のみを選択的に破壊するジーンターゲットング法 (※2) は確立しておらず、ゲノム情報の利用に大きな制限がかかっていました。

近年、設計可能な人工制限酵素 (人工ヌクレアーゼ (※3)) を用いて、ゲノム上の特定の遺伝子を破壊したり、標識遺伝子を導入したりするゲノム編集技術が注目されています。同一の技術体系によって、植物、微生物、動物を含む全ての生物種のゲノムが改変できるため、基礎研究および様々な生物系産業での利用が期待されています。ゲノム編集には核酸と配列特異的に結合する核酸結合モジュール (※4) が必須です。現在、DNA 結合モジュールとして、ジンクフィンガー、TALE、CRISPR/Cas (※5) が利用されており、それぞれの核酸結合モジュールの比較検討が進められています。しかし、ゲノム編集技術は未だ萌芽期であり、新たな核酸結合モジュールの発見が期待されています。

一方、最近、様々な生命現象における RNA の重要性が認識されてきました。例えば、低分子の RNA 成分を利用した RNA 干渉法 (※6) による目的遺伝子転写物の分解 (ノックダウン) 技術が盛んに利用されています。しかし、RNA に作用する蛋白質性結合モジュールは、未だ産業化されていないのが現状です。

## 【内容】

PPR (pentatricopeptide repeat) 蛋白質は植物で大きなファミリー (※7) を形成する蛋白質です。それぞれが異なる配列に作用する DNA または RNA 結合蛋白質として働くことが知られています。

研究グループは、これまでに研究されてきた RNA 結合に働く数十個の PPR 蛋白質とその結合配列のデータを基にしたコンピュータ解析により、PPR 蛋白質の RNA 認識コードを解読しました。

その結果、PPR モチーフと RNA 塩基が一对一の対応関係で結合すること、特定の 3 か所のアミノ酸の組み合わせで結合塩基が決定すること、結合塩基がプログラム化可能であることを明らかにしました (図 1)。また、解読した RNA 結合コードが DNA 結合に働く PPR 蛋白質にも適用できることを見出しました。

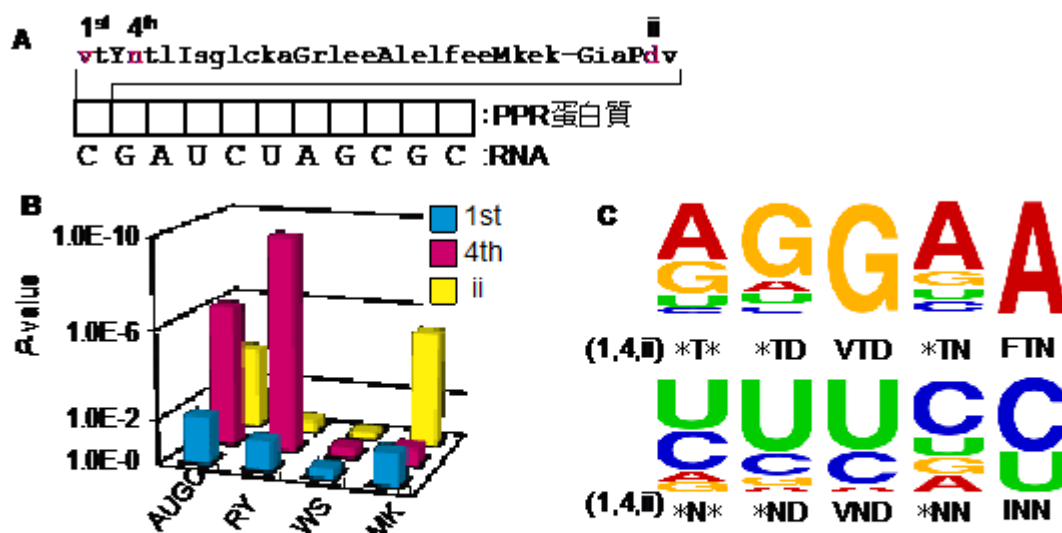


図1. PPRモチーフのRNA認識コード (A) PPR蛋白質は35アミノ酸からなるPPRモチーフの約10回の繰り返し構造からなる。モチーフと塩基は一对一の対応関係で、RNA塩基の識別は、1番、4番、ii(-2)番の3つのアミノ酸の組み合わせのみで決定する。(B) 4番アミノ酸が最も重要で、プリン(R; A, G)・ピリミジン(Y; C, U)識別に働き、次にii番アミノ酸がアミノ型(M; A, C)、ケト型(K; G, U)の識別に働く。最後に、1番アミノ酸が指定塩基にさらなら制限を加える。(C) 認識コードの例。

## 【効果】

PPR蛋白質の核酸認識コードの解明により、意図するRNAまたはDNA配列に特異的に結合する蛋白質を開発できるようになりました。また、生物にとって重要なPPR蛋白質、産業に有用な天然型PPR蛋白質の標的配列の予測も可能になりました。

PPR蛋白質は、DNAまたはRNAの両方の核酸に対応可能なモジュールであり、既知のゲノム編集用核酸結合モジュールにない特徴の1つです。また、TALEで知られるTを認識するゼロモチーフのようなものはPPRには見当たらず、完全に自由な配列選択性を有しています。

## 【今後の展開】

DNAを標的としたゲノム編集は、国際的に大きな注目を集めている新技術です。DNA結合型PPRを核酸結合モジュールに用いた日本発のゲノム編集技術の創出が期待されます。

RNA結合型PPRを用いて、RNAを切断したり、特定の塩基を置換する編集技術、特定のRNAの局在を見る可視化技術などの革新的なRNA操作技術の創出が期待されます。

\*本研究成果の一部は、(独) 農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究支援センターが実施するイノベーション創出基礎的研究推進事業の研究課題「植物ミトコンドリア遺伝子発現の分子基盤解明と育種への応用」(平成 21~23 年度)として行ったものです。

#### ◆用語解説

##### (※1) モチーフ

繰り返し単位のこと。タンパク質においては、一定規則の複数個のアミノ酸から構成される機能的または構造的なひとまとまりのこと。

##### (※2) ジーンターゲティング法

分子生物学の実験で、特定の遺伝子に変異を導入したり組換えたりする技術のこと。狙った遺伝子だけに効率よく変異を導入できることが特徴。

##### (※3) 人工ヌクレアーゼ

特定の DNA に結合するドメインと DNA 切断酵素を結合させた人工タンパク質。これまで遺伝子工学で使われていた制限酵素は約 2000 塩基対から一か所を選択的に切断することができたが、人工ヌクレアーゼを使えば、30 億塩基対あるヒトゲノムから一か所を選択的に切断することができる。

##### (※4) モジュール

機能単位、交換可能な構成部分という意味。複数のモジュールを組み合わせることで、複数の機能を付与することができる。

##### (※5) ジンクフィンガー、TALE、CRIPSR/Cas

それぞれ、人工ヌクレアーゼを作製する際に使用されている DNA に結合するドメイン(ジンクフィンガー、TALE)、もしくは遺伝子座(CRIPSR/Cas)の名称。これらを使うことで、任意の DNA 塩基配列を認識するタンパク質、もしくはタンパク質複合体を作製することができる。

##### (※6) RNA 干渉法

二本鎖 RNA と相補的な塩基配列を持つ mRNA が分解される RNA 干渉(RNA interference、RNAi)という現象を利用して、人工的に二本鎖 RNA を導入することにより任意の遺伝子の発現を抑制する手法。

##### (※7) ファミリー

タンパク質においては、進化上の共通祖先に由来すると推定されるタンパク質をまとめたグループのことを指す。似たような機能、構造を持つ場合が多い。

### 【研究に関するお問い合わせ先】

○九州大学大学院農学研究院 准教授

中村 崇裕 (なかむら たかひろ)

電話・FAX : 092-642-3370

Mail : [tnaka@agr.kyushu-u.ac.jp](mailto:tnaka@agr.kyushu-u.ac.jp)

○広島大学大学院理学研究科 教授

山本 卓 (やまもと たかし)

電話 : 082-424-7446

FAX : 082-424-7498

Mail : [tybig@hiroshima-u.ac.jp](mailto:tybig@hiroshima-u.ac.jp)

### 【広報に関するお問い合わせ先】

○九州大学 広報室

〒812-8581 福岡市東区箱崎 6-10-1

TEL : 092-642-2106

FAX : 092-642-2113

Mail : [koho@jimukyushu-u.ac.jp](mailto:koho@jimukyushu-u.ac.jp)

URL : <http://www.kyushu-u.ac.jp>

○広島大学 学術・社会産学連携室広報グループ

〒739-8511 東広島市鏡山一丁目 3-2

TEL : 082-424-4657

FAX : 082-424-6040

Mail : [koho@office.hiroshima-u.ac.jp](mailto:koho@office.hiroshima-u.ac.jp)

URL : <http://www.hiroshima-u.ac.jp/index-j.html>