

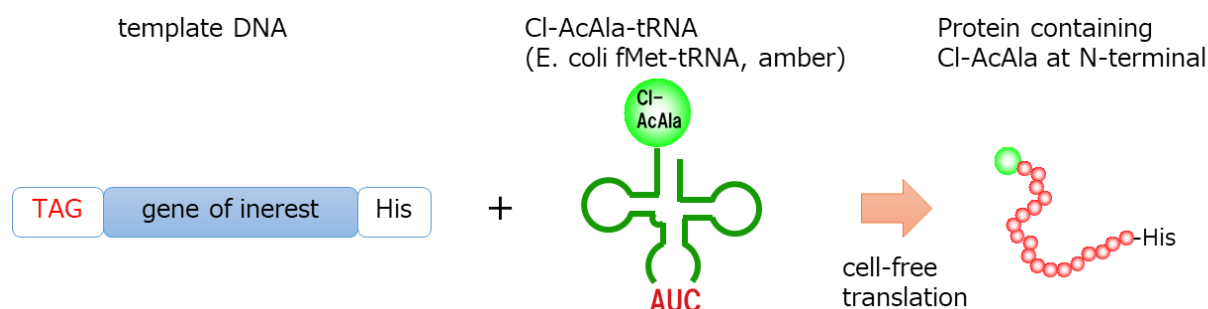
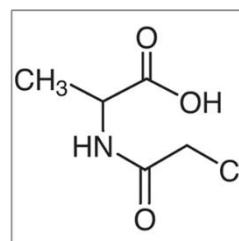
〈非天然アミノ酸導入例 4, 開始コドンへの導入〉

CloverDirect シリーズの技術応用として、開始コドンへ非天然アミノ酸が導入可能なアミノアシル tRNA の検討を行いました。

【試験：開始アンバーコドンに対する非天然アミノ酸導入試験】

大腸菌の fMet-tRNA のアンチコドンアンバーアンチコドンとした tRNA に対して、N-Chloroacetyl-DL-alanine (Cl-AcAla) を結合させたアミノアシル tRNA を化学合成しました。鋳型遺伝子は開始メチオニンの ATG コドンを **TAG (アンバーコドン)** に置換し、大腸菌無細胞翻訳系で目的タンパク質の生産を行いました (Fig. 1 lane 3)。コントロールとして、tRNA 非添加 (Fig. 1 lane 1)、アミノアシル化されていない tRNA 添加 (Fig. 1 lane 2) の翻訳反応液を用いています。

N-Chloroacetyl-DL-alanine (Cl-AcAla)



非天然アミノ酸 (Cl-AcAla) が N 末端のアンバーコドンの位置に導入されると、全長のタンパク質として翻訳され、抗 His タグ抗体で検出されるようになります。抗 His タグ抗体を用いたウェスタンブロットの結果、Cl-AcAla がタンパク質の開始コドンへ導入され、His タグを含む全長のタンパク質が生産できていることを確認いたしました。

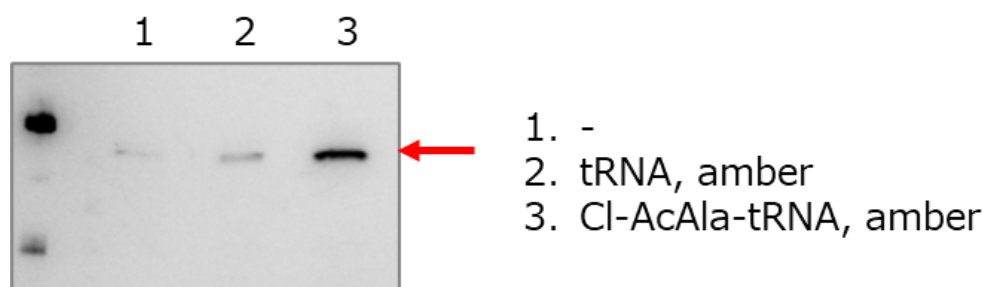


Fig. 1 非天然アミノ酸のタンパク質 (開始コドン) への導入試験

本アミノアシル tRNA は新製品として販売開始いたしました。

https://www.proteinexpress.co.jp/product/clover_direct#CLDi

CloverDirect 製品情報は[こちら](#)