

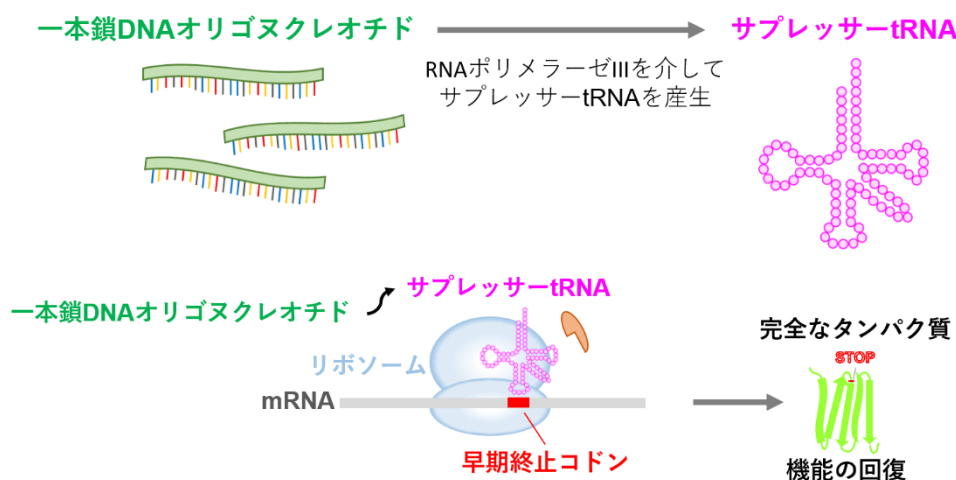
プロモーター配列を持たない DNA オリゴヌクレオチドからサプレッサー tRNA が発現 — 早期終止コドンを読み飛ばす新たな手法、ナンセンス変異疾患への応用に期待—

■ 概要

遺伝子のナンセンス変異⁽¹⁾は、タンパク質の設計図である mRNA に、本来の終止コドンよりも前にタンパク質合成を終了させる「早期終止コドン (premature termination codon: PTC)」⁽²⁾を生じさせ、正常なタンパク質が作られなくなる原因の一つです。近年、PTC を「読み飛ばして」タンパク質合成を継続させるサプレッサー tRNA⁽³⁾を利用した治療法が注目されていますが、体内での安定性や細胞・組織への送達が課題となっています。

今回、国立遺伝学研究所の山本悠研究員 (現・横浜市立大学医学部 助教)、Peixin Zhu 外来研究員、米原圭祐教授 (現・横浜市立大学医学部 教授)らの研究グループは、培養細胞を用いた実験により、サプレッサー tRNA の配列を持つ短い一本鎖 DNA オリゴヌクレオチドを細胞に導入することで、細胞内で機能的なサプレッサー tRNA が産生され、PTC を読み飛ばして、その遺伝子から作られるタンパク質の機能を回復できることを明らかにしました (図 1)。さらに、DNA オリゴヌクレオチドからサプレッサー tRNA が産生される過程に、RNA ポリメラーゼ III による転写が関与することを示しました。本研究は、DNA オリゴヌクレオチドを利用した新たなサプレッサー tRNA 発現技術を提示するものであり、ナンセンス変異を原因とする遺伝性疾患に対する新たな核酸治療法の開発につながる可能性があります。

一本鎖 DNA オリゴヌクレオチドによる早期終止コドンの読み飛ばし



【図1】本研究の概略図。サプレッサー tRNA の配列を持つ一本鎖 DNA オリゴヌクレオチドからサプレッサー tRNA が産生され、ナンセンス変異によって生じた早期終止コドンを読み飛ばすことが可能となる。その結果、完全なタンパク質が作られ、タンパク質の機能回復につながる可能性がある。

■ 成果掲載誌

本研究成果は、国際科学雑誌「Molecular Therapy Nucleic Acids」に 2026 年 9 月 23 日に掲載されました。

論文タイトル

英語: DNA oligonucleotides encoding suppressor tRNA induce readthrough of premature termination codon

著者: Haruka Yamamoto, Peixin Zhu, Keisuke Yonehara

DOI: 10.1016/j.omtn.2026.103110

■ 研究の詳細

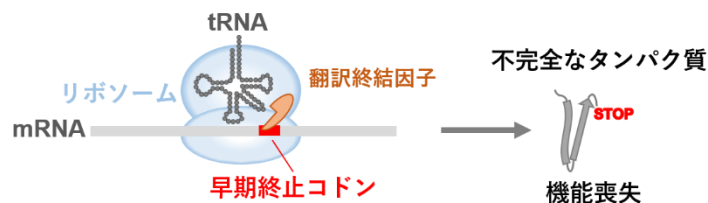
● 研究の背景

私たちの体では、DNA に記録された遺伝情報をもとにタンパク質が作られ、生命活動が維持されています。DNA に「ナンセンス変異」が生じると、メッセンジャーRNA (mRNA) 上に本来より早くタンパク質の合成を終了させる「早期終止コドン (premature termination codon: PTC)」が生じ、タンパク質の合成が途中で停止します。通常、転移 RNA (tRNA) は mRNA 上のコドンを認識し、対応するアミノ酸をタンパク質に組み込む役割を担いますが、ナンセンス変異では早期終止コドンが生じるため、タンパク質の合成が途中で終了します。その結果、不完全なタンパク質が作られ、タンパク質の機能喪失につながる場合があります (図2)。遺伝性疾患の約 10% はナンセンス変異が原因とされており、ナンセンス変異が生じる遺伝子によって、網膜色素変性症やデュシェンヌ型筋ジストロフィーなど、さまざまな病態を示します。このように多くの遺伝子が原因となり得ることから、個々の遺伝子を対象とした治療法には限界があり、さまざまなナンセンス変異に対応できる包括的な治療法が求められています。

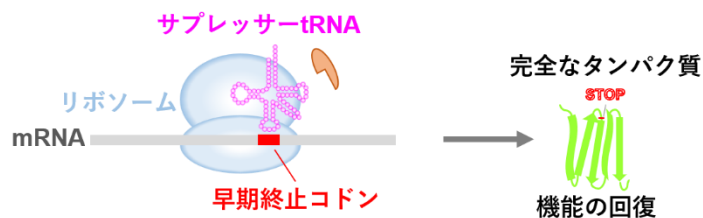
近年、この PTC を「読み飛ばす」ことで、正常な長さのタンパク質を作らせるサプレッサー tRNA が注目されています。サプレッサー tRNA は、通常であればタンパク質の翻訳を終了させる終止コドン（STOP）を認識し、アミノ酸を取り込ませることで、翻訳を継続させます (図2)。一方、tRNA などの RNA は一般的に分解されやすいため、サプレッサー tRNA を tRNA として投与する場合には、体内での安定性や細胞・組織への送達が課題となります。

そこで研究グループは、tRNA そのものではなく、サプレッサー tRNA を作るための DNA を細胞に届けることで、細胞内でサプレッサー tRNA を産生させることができないかと考えました。一般的に、DNA から tRNA を発現させる場合にはプラスミド DNA が用いられ、tRNA を発現させるためのプロモーター配列や終結配列などが必要とされます。

ナンセンス変異による不完全なタンパク質合成



サプレッサー tRNA による早期終止コドンの読み飛ばし



【図2】ナンセンス変異によるタンパク質合成の停止と、サプレッサー tRNA による機能回復。(上段)ナンセンス変異によって早期終止コドンが生じ、その位置でタンパク質の合成が終了することで、不完全なタンパク質が産生される。(下段)サプレッサー tRNA が働くことで、早期終止コドンを読み飛ばしてタンパク質の合成が継続され、完全な長さのタンパク質が産生される。

● 本研究の成果

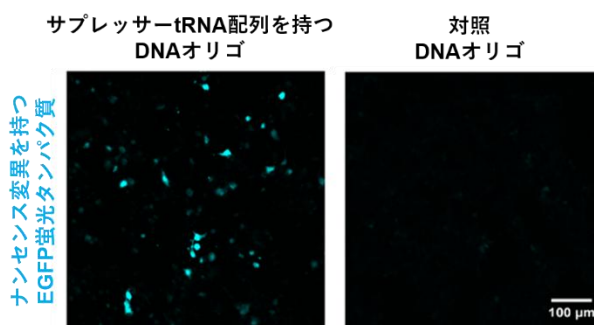
研究グループは、さまざまな手法によって PTC の読み飛ばしを試みる中で、サプレッサー tRNA の配列を持つ一本鎖 DNA オリゴヌクレオチドが、PTC の読み飛ばしを誘導することを発見しました。

実験では、ナンセンス変異によって PTC を持つ蛍光タンパク質の遺伝子を導入した培養細胞を用いました。通常、この細胞では PTC によってタンパク質の翻訳が途中で停止するため、蛍光タンパク質はほとんど作られません。しかし、サプレッサー tRNA の配列を持つ一本鎖 DNA オリゴヌクレオチドを細胞に導入すると、蛍光タンパク質のシグナルが検出され、PTC を読み飛ばしてタンパク質合成が継続したことが分かりました (図3)。また、相補的な配列を持つ一本鎖 DNA オリゴヌクレオチドや、特定の条件で断片化した DNA オリゴヌクレオチドでも PTC の読み飛ばしが誘導されました。

次に、この現象が DNA オリゴヌクレオチドそのものによるものなのか、そこから産生されたサプレッサー tRNA によるものなのかを調べました。サプレッサー tRNA と対応する配列を持つ microRNA を細胞に導入したとこ

ろ、DNA オリゴヌクレオチドによる PTC の読み飛ばしが抑制されました。このことから、DNA オリゴヌクレオチドの配列をもとに産生されたサプレッサー tRNA が、PTC の読み飛ばしに関与している可能性が示されました。さらに、RNA ポリメラーゼ III の働きを薬剤によって阻害すると、DNA オリゴヌクレオチドによる PTC の読み飛ばしが低下しました。RNA ポリメラーゼ III は、tRNA などの RNA を作る「転写」を担う酵素です。この結果から、DNA オリゴヌクレオチドが細胞内で RNA ポリメラーゼ III によって転写され、機能的なサプレッサー tRNA が産生されることが示唆されました。

重要な点は、今回用いた DNA オリゴヌクレオチドには、これまで tRNA を発現させる際に用いられてきた外来性のプロモーター配列を追加していないことです。サプレッサー tRNA の配列を持つ短い一本鎖 DNA オリゴヌクレオチドそのものを細胞に導入することで、細胞内で機能的なサプレッサー tRNA を産生できることを明らかにしました。本研究は、DNA オリゴヌクレオチドを利用して細胞内でサプレッサー tRNA を産生させるという、これまでとは異なる核酸治療の可能性を示すものです。



【図3】ナンセンス変異を持つ EGFP (緑色蛍光タンパク質) を用いた蛍光観察。サプレッサー tRNA の配列を持つ DNA オリゴヌクレオチドを導入した細胞では、EGFP の蛍光が回復する。一方、サプレッサー tRNA として機能しない対照 DNA オリゴヌクレオチドを導入した細胞では、EGFP の蛍光は観察されない。

● 今後の期待

本研究で示した DNA オリゴヌクレオチドによるサプレッサー tRNA 発現技術は、ナンセンス変異によってタンパク質の機能が失われる遺伝性疾患に対する新たな核酸治療法の開発につながる可能性があります。DNA オリゴヌクレオチドは化学的に安定で、ベクターを使用せずにサプレッサー tRNA を産生できることから、核酸治療への応用に適した特徴を持つと考えられます。また、既存の核酸医療で用いられている化学修飾技術を組み合わせることで、安定性などの特性を調整できることも期待されます。一方で、PTC の読み飛ばし効率や、目的とする細胞・組織に DNA オリゴヌクレオチドを効率よく届ける方法など、解決すべき課題も残されています。

今後、これらの課題について検討を進め、動物モデルにおける有効性や安全性を評価することで、治療応用に向けた可能性を検証していくことが重要です。

■ 用語解説

(1) ナンセンス変異

DNA の変異によって、アミノ酸を指定するコドンが終止コドンに変化する変異です。これにより、タンパク質の合成が途中で終了し、正常な機能を持たない短いタンパク質が生じる場合があります。

(2) 早期終止コドン (Premature Termination Codon: PTC)

本来の終止コドンよりも前に生じた終止コドンです。ナンセンス変異によって生じ、タンパク質の合成を本来より早く終了させます。

(3) サプレッサー tRNA (Suppressor tRNA)

通常はタンパク質の合成を終了させる終止コドンを認識し、対応するアミノ酸をタンパク質に組み込ませる転移 RNA (tRNA) です。早期終止コドン (PTC) を「読み飛ばす」ことで、途中で停止したタンパク質の合成を継続させることができます。

■ 研究体制と支援

【研究体制】

本研究は、国立遺伝学研究所の山本悠研究員、Peixin Zhu 外来研究員、米原圭祐教授らからなる研究グループによって実施されました。

【研究費・支援】 情報・システム研究機構 戦略的研究プロジェクト(2025-SRP-22)、遺伝研博士研究員

■ 問い合わせ先

<研究に関すること>

- 情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 多階層感覚構造研究室(研究当時)

教授 米原圭祐(よねはら けいすけ)

メール: keisuke.yonehara@nig.ac.jp

<報道担当>

メール: prkoho@nig.ac.jp

配付先: 文部科学記者会、科学記者会、三島記者クラブ