

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	トリプファンを含まない遺伝暗号表およびタンパク質の進化に関する研究
Title(English)	
著者(和文)	河原晃大
Author(English)	Akio Kawahara
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9682号, 授与年月日:2014年12月31日, 学位の種別:課程博士, 審査員:木賀 大介,山村 雅幸,中村 清彦,木川 隆則,瀧ノ上 正浩
Citation(English)	Degree:., Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9682号, Conferred date:2014/12/31, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

## 論文審査の要旨及び審査員

(2000字程度)

報告番号	乙 第 号	学位申請者	河原 (小林) 晃大	
	氏 名	職 名	氏 名	職 名
論文審査員	主査 木賀 大介	准教授	瀧ノ上 正浩	講師
	山村 雅幸	教授		
	中村 清彦	教授		
	木川 隆則	連携教授		

本論文は「トリプトファンを含まない遺伝暗号表およびタンパク質の進化に関する研究」と題し、全4章から構成されている。

第一章「序章」では、生命の起源と進化に関する複雑化の過程と、過去の生命現象を推測する方法について説明している。触媒など、生命における反応をつかさどるタンパク質の構成要素であるアミノ酸は、現在では20種類であるが、進化の初期においては7-13種類であったと考えられていると述べている。生命の起源と進化に関する研究が、単純なものから複雑なものへとシステムが発展していくことを明らかにしてきた事実に符合するように、タンパク質を構成するアミノ酸セットの種類は、細胞の成立後、アミノ酸やタンパク質の生合成経路の発達によって徐々に増加したと考えられているとしている。このタンパク質の世界と、DNAやRNAの核酸の世界をつないで進化を可能にするのが遺伝暗号表であり、20種類のアミノ酸セットからなる普遍遺伝暗号表は、19種類以下のアミノ酸セットからなる単純な形から進化してきたと考えられていると述べている。普遍遺伝暗号表の成立のひとつ前の時代の遺伝暗号表では、トリプトファン(Trp)以外の19種類アミノ酸セットで諸タンパク質の機能が達成され生命が成立していたと考えられると述べている。本研究では以下の2つ、すなわち①Trp以外の19アミノ酸からなるセットでもタンパク質の進化が可能であること、②Trpが含まれない遺伝暗号表が成立すること、を「創る」アプローチを用いて実験的に示すことで、過去にTrpが含まれない遺伝暗号表をもとにタンパク質が機能しながら進化し、生命現象を支え得たとする実験的事実を提供するとしている。

第二章「トリプトファンを含まない19種類のアミノ酸セットからなるタンパク質の人工進化」では、Trpを含まない19種類のアミノ酸セットからなるタンパク質の人工進化について記述している。Trpが遺伝暗号表に導入される前に存在したと考えられている19種類のアミノ酸からなるタンパク質が進化できたであろうことは、Trpを含まない野生型タンパク質の人工進化によって確認されているとしている。しかし、Trpを含まない野生型タンパク質は稀であり、人工進化の知見を蓄積するためには進化実験の対象を広げる必要があると述べている。本研究では、20種類のアミノ酸からなる緑色蛍光タンパク質に含まれるTrpを置換し、変異と選択を繰り返すDirected evolutionを用いることで、Trpを含まない19種類のアミノ酸セットからなるタンパク質の活性が向上することを示したと説明している。さらに、活性を向上させる複数の変異はそれぞれが加算的に活性を向上させることも明らかにし、従来知られていた20種類のアミノ酸セットからなるタンパク質の人工進化との類似性を示したと述べている。

第三章「トリプトファンを含まない19種類のアミノ酸セットからなる遺伝暗号表の構築」では、Trpを含まない19種類のアミノ酸セットからなる遺伝暗号表の構築について記述している。Trpを含まない19種類以下のアミノ酸セットからなる遺伝暗号表は、進化の途上で存在したと考えられているが、今のところ現存するものは見つかっておらず、また実験的に構築可能かどうかは確かめられていなかったと説明している。本研究では、Trpを含まない19種類以下のアミノ酸セットからなる遺伝暗号表を構築するために、大腸菌由来の無細胞翻訳系に対して、①反応系中からTrpを除き、②Trpをトリプトファン tRNA に結合させるトリプトファン tRNA 合成酵素の活性を阻害し、かつ③Trp コドンに対応するアンチコドンを持つアラニル tRNA 変異体を加える、の3つの改変を加え、その後の機能解析に進んだとしている。解析の結果、構築した遺伝暗号表はどのような遺伝子配列に対してもTrpを含むことのないものであることを確認できただけでなく、タンパク質翻訳の効率と正確性が通常の遺伝暗号表と同等であることも確認できたと述べている。さらに、同様の構築概念を用いて、どのような遺伝子配列に対してもシステインを含むことのない遺伝暗号表も構築できることを示したと述べている。

第四章「総合討論」では、第二章と第三章で得られた結果を総合し、Trpが遺伝暗号表に導入された意義について仮説を立てて考察したとしている。Trpは、特別な触媒反応を提供する反応基を持たず、かつ生合成のためのエネルギーコストが20種類のアミノ酸の中で最大であるため、遺伝暗号表に積極的に取り入れられる理由が少ないと説明している。しかし、20種類のアミノ酸の中で最大のファンデルワールス半径を持つ疎水性アミノ酸として、Trpはタンパク質の疎水性コアを効率的に埋める役割を担ったために、遺伝暗号表に取り入れられたとする仮説を説明している。展望として、本研究で構築したTrpを含まない遺伝暗号表とDirected evolutionを組み合わせることで、Trpを含まない活性型タンパク質を効率的に取得でき、進化の途上で存在したTrpを含まないタンパク質の特徴についての考察を深める有用な手段となるとしている。最後に、同様にTrpを含まない遺伝暗号表とタンパク質についての理解を深めるために重要な課題である、Trpを含まない生物の創出に向けた提案について説明している。

以上を要するに、本研究は、生命を構成する基本的な構成要素であるタンパク質および、遺伝子とタンパク質を結びつける遺伝暗号表の過去の姿について、これまで乏しかった実験的事実を提供したものであり、理學上貢献するところが大きい。よって本論文は、博士(理学)の学位論文として十分な価値があるものと認められる。