

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	田中 淳子
主 論 文 題 目 :				
少数種のアミノ酸からなる人工タンパク質の構造と機能に関する研究				
(内容の要旨)				
<p>近年、タンパク質の進化過程を実験的に検証する構成的生物学が注目されている。タンパク質の進化過程を理解することは、新しい構造や機能をもつ有用なタンパク質を創出する工学的応用にもつながることが期待されている。しかし、生命誕生時にさまざまな機能をもつタンパク質がどのように創出されたか、その原理はまだ不明である。現在の天然タンパク質は20種類のアミノ酸から構成されているが、生物進化の初期の遺伝暗号は、化学進化の初期段階で豊富に存在した少数種の「原始的」アミノ酸からなり、その後、次第に「新しい」アミノ酸が加わり現在の20種類に達したという仮説が提案されている。本研究では、少数種の異なる組み合わせのアミノ酸からなる人工タンパク質の構造形成能と機能出現頻度を比較することにより、この仮説を実験的に検証することを目的とした。</p> <p>第1章では、タンパク質と遺伝暗号の起源と初期進化に関する仮説について概観している。</p> <p>第2章では、進化分子工学の手法、特に本研究で用いた mRNA ディスプレイ法について述べている。</p> <p>第3章では、少数種のアミノ酸で構成されるランダム配列タンパク質の構造形成能を解析した結果について述べている。すなわち、アミノ酸の種類を5および12種に限定した原始的と考えられているアミノ酸を多く含むランダム配列ライブラリーは、天然のアミノ酸20種すべてを含むランダム配列ライブラリーよりも高い溶解度を示す配列の割合が高いことを示した。一方、それらのランダム配列タンパク質の二次構造や三次構造などの構造形成能は同程度であった。タンパク質の溶解度は、球状タンパク質が機能を発現する上で重要な要素であることから、原始的なアミノ酸を多く含むタンパク質は天然の20種すべてを含むものより機能出現頻度が高い可能性を示した。</p> <p>第4章では、少数種のアミノ酸からなる人工タンパク質の機能出現頻度を比較した結果について述べている。既存の SH3 ドメインの約半分を原始的アミノ酸を多く含む12種に限定したランダム配列に置き換えたライブラリーからは SH3 リガンド結合活性をもつ配列が得られたが、比較的新しいアミノ酸10種を含むライブラリーからは得られなかった。これらの結果は、原始タンパク質がこれらの原始的と考えられているアミノ酸で構成されていたという仮説を支持する最初の実験的証拠と言える。また、原始的アミノ酸を多く含む配列空間は、20種類のアミノ酸の場合よりも、実際に多くの SH3 リガンド結合活性をもつ配列を含んでいることを示した。</p> <p>第5章では、以上の結果について考察し、将来の展望としてこのような少数種の原始的アミノ酸を利用した新規タンパク質の創出方法について述べ、本論文を総括した。</p>				

SUMMARY OF Ph.D. DISSERTATION

School Science and Technology	Student Identification Number	SURNAME, First name TANAKA, Junko
Title A study of structure and function of artificial proteins with limited sets of amino acids		
Abstract <p>Recently, several researchers attempted to demonstrate in the laboratory how protein evolutionary steps might happen in nature. Better understanding of protein evolution pathway provides more efficient tool for creation of artificial proteins with novel functions and structures. However, most previous studies have been mainly focused on relatively recent evolutionary pathways of modern proteins; none of the hypotheses for an early evolution of primitive proteins has yet been tested. Although modern proteins consist of 20 different amino acids, it has been proposed that primordial proteins consisted of a small set of “primitive” amino acids that could have been abundantly formed during an early chemical evolution, and then additional “new” amino acids have gradually been recruited into the genetic code. In this study, to test this hypothesis, we compared the function and structure of tested proteins with different subsets of amino acids.</p> <p>In Chapter 1, we overview hypotheses on the origin and early evolution of proteins and genetic code.</p> <p>In Chapter 2, we explain evolutionary biotechnologies, especially an mRNA display technique used in this study.</p> <p>In Chapter 3, we describe the characterization of random-sequence proteins consisting of limited sets of amino acids. The random-sequence proteins constructed with subsets of the putative primitive amino acids (5 and 12-member alphabet) have higher solubility than those constructed with the natural 20-member alphabet, though other biophysical properties are very similar in those libraries. Because the solubility of globular proteins is an important factor for exertion of their function, the occurrence rate of functional proteins from the sequence space with a limited set of primitive amino acids may tend to be higher than that from the sequence space with the natural 20-member alphabet.</p> <p>In Chapter 4, we show the comparison of the occurrence rate of functional proteins with limited sets of amino acids. We performed <i>in vitro</i> selection of partially randomized SH3 libraries with different sets of amino acids. The functional SH3 sequences were enriched from a library rich in putative primitive amino acids, but not from a library rich in putative new amino acids. This is the first experimental support for the hypothesis that the primordial proteins consist of these putative primitive amino acids. Further, the library rich in putative primitive amino acids included a slightly larger number of functional SH3 sequences than a randomized library with the full set of amino acids.</p> <p>In Chapter 5, we discuss results described above and possibility of creation of artificial proteins using primitive amino acids in the future study.</p>		