

## 論文審査の結果の要旨

氏名 兒玉 公一郎

本論文はイントロダクション・4つの章・総合討論からなる。イントロダクションは、タンパク質工学と炭素-炭素形成反応の研究発展の歴史を概略した後、遷移金属化学反応をタンパク質工学に応用することの重要性とその必要性を説明している。また最後に、フリーラジカルバイオロジー（金属を介した酸素ラジカルの生成とタンパク質の酸化）の発展についても、本研究で必要となる事項について紹介している。

第1章は、ヨウ化アリールを含む非天然型アミノ酸である4-ヨードフェニルアラニン（パラジウム触媒の基質となる）の位置選択的な導入について述べている。論文提出者は大腸菌の無細胞タンパク質合成系を用い、ヒトras遺伝子の標的的部位（ナンセンスコドンを導入した部位）に高い選択性（97%）で4-ヨードフェニルアラニンを導入することに成功した。既存の方法では50%程度（残り半分は天然型アミノ酸）の選択性しかなかったが、これはサプレッサーtRNAが無細胞タンパク質合成によって再利用された為であった。論文提出者は、アミノ酸受容活性の低いサプレッサーtRNA<sup>Phe</sup>が特定の条件でのみ効率よくアミノアシル化されることを見だし、サプレッサーtRNAが再利用されない新しい無細胞タンパク質合成系を構築した。

第2章は、タンパク質機能化のための予備実験である。4-ヨードフェニルアラニン残基を含んだモデルペプチドを用いて、パラジウム触媒反応（溝呂木-ヘック反応・菌頭反応）の条件検討を行った。従来、パラジウム触媒反応は室温以上・高い有機溶媒濃度で行われることが多かったが、論文提出者はタンパク質を変性させない条件（穏和かつタンパク質安定剤存在下）でパラジウム触媒反応が進行することを見いだした。

第3章も予備実験であり、野生型Rasタンパク質のパラジウム触媒条件下における安定性を調べている。Rasの分解・沈殿・酸化に加え、パラジウム触媒反応の副反応が検出されたが、論文提出者は様々な条件検討を行うことでこれらの問題点を解決した。

第4章は、タンパク質（上のアミノ酸残基）を基質としたパラジウム触媒反応について述べている。4-ヨードフェニルアラニン残基を導入したRasタンパク質がパラジウム触媒反応によって機能化されたことを、論文提出者はウエスタンブロッティング・質量分析によって確認し、また機能化Rasタンパク質が活性を保持していることをGSTプルダウンアッセイによって確認した。

総合討論において、論文提出者は自らの実験成果を総括しタンパク質上でパラジウム触媒反応が進行したという最終的な結論を得たが、無理のない導出であると思われる。また反応が進行した理由についても妥当な考察が述べられている。さらに過去の報告との比較検討を行い、本研究が特殊な成功例ではなく一般性を持つことを説明している。最後に、本手法を利用したタンパク質工学の今後の展開について鳥瞰している。現在のところタンパク質は有機合成の基質にならないという観念が広く定着しており、論文提出者の主張は新しい科学的知見である。従って、本論文の内容は充分新規性のあるものと認められる。

なお、本論文に用いられた無細胞タンパク質合成系及びRasタンパク質の活性測定については理研GSCタンパク質グループ(横山茂之, 木川隆則, 坂本健作, 白水美香子, 矢吹孝, 松田夏子), パラジウム触媒反応については理学系研究科化学専攻天然物化学研究室(橘和夫, 福沢世傑), 質量分析については理研和光研究所生体分子解析室(瀧尾擴士, 中山洋)との共同研究であるが、論文提出者が主体となり実験を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。