

論文審査の結果の要旨

氏名 向 井 崇 人

大腸菌からヒトに至るまで、知られている全ての生物種は、基本的に同じ遺伝暗号を受け継いでいる。これは、全ての生物種が同じ祖先から分岐したことを意味する。しかし細部においては、標準遺伝暗号からのずれが見られることがある。進化の方向性として、タンパク質を構成するアミノ酸レパートリーの拡張と、ゲノムレベルでのコドンの再定義がある。遺伝暗号が変化するためには、2つの要因が存在する。1つは、ゲノム全体におけるコドン使用状況の変化であり、もう1つは、コドンを解読する因子の変化である。前者はゲノム情報の比較・解析がなされ、後者は実験的にも解析されてきたが、いずれも、過去に標準遺伝暗号からずれるに至ったメカニズムが研究の対象であった。

生物種が通常タンパク質合成に使用している20種類のアミノ酸に加え、非天然型アミノ酸を組み込むことで、翻訳後修飾された天然タンパク質の機能の再現や、自然界には存在しえない化学的性質を付与することを目指した研究が行われてきた。この手法は、まず大腸菌を用いて達成され、その後、哺乳類培養細胞、酵母でも可能になっている。特に、終止コドンの1つであるUAGコドンを上書きして翻訳させる方法が一般的である。

論文提出者は、現在の、標準遺伝暗号を持つ生物種における遺伝暗号の可塑性について興味を抱き、標準遺伝暗号からの逸脱が特殊な生物種に限定されるかどうか、遺伝暗号の変化を可能にするメカニズムや、妨げる要因、更には、人為的な、工学的な目的への応用の可能性について答えるべく、研究を行った。

本論文は序章と総合討論を含めた6章からなる。序章は、研究の背景と目的について述べられている。第2章は、メタン生成古細菌 *Methanosarcina mazei* 由来の tRNA^{Pro} とピ

ロリジル tRNA 合成酵素 (PyIRS) の, 哺乳類培養細胞への移植について述べられている. 論文提出者は, PyIRS・tRNA^{Pyl} ペアが, 真核生物種においても遺伝暗号を拡張することを初めて実証し, その仕組みを考察した. アミノ酸・アミノアシル tRNA 合成酵素 (aaRS) ・ tRNA 間の相互作用の様式が, 未だ飽和していないことを見出した意義が大きい.

第 3 章は, 昆虫培養細胞の遺伝暗号拡張について述べられている. 論文提出者は, *Drosophila melanogaster*, *Bombyx mori*, *Trichoplusia ni* 由来の培養細胞において, 第 2 章で開発した U6 プロモーターによる外来 tRNA の発現系を採用し, UAG を 3-ヨードチロシンとして翻訳することに成功した. 哺乳類細胞とは異なり, 昆虫の U6 プロモーターは種特異性が非常に高く, 更に tRNA の転写様式にも好みがあることを報告している. 真核生物の遺伝暗号を拡張する上での方法論を確立し, 更に問題点や課題を明らかにした点が, 高く評価できる.

第 4 章と第 5 章は, UAG を終止コドンからセンスコドンへ再定義する方法と意義について述べられている. 論文提出者は, 大腸菌において UAG コドン認識する翻訳解離因子 RF-1 を除去する条件を発見し, UAG コドンをグルタミンや, 3-ヨードチロシンなどの非天然型アミノ酸へ再定義することに成功した. UAG コドンを終止コドンに持つ 7 つの必須遺伝子と *sucB* 遺伝子について, 別の終止コドンに置換し, UAG を翻訳する高効率なサプレッサー-tRNA を発現させておくことで, RF-1 をコードする *prfA* 遺伝子をノックアウトしている. これは, 標準遺伝暗号が, 現代の生物種においても, 容易に進化しうることを示し, 実験室における遺伝暗号の進化実験を可能にした, 最初の研究報告である.

総合討論は, UAG コドンの柔軟性, 遺伝暗号の可塑性, 更に応用研究の展望について述べられている. UAG コドンの柔軟性については, UAG の異常な翻訳に対するプロテオームの攪乱効果が, 致命的でない理由を議論した. 遺伝暗号の変化については, 従来は非常に長い時間がかかるものと考えられていたが, 必要最小限の同義置換が蓄積することで, 翻訳因子の変化による偶発的なコドン再定義が可能になり, その後, 同義置換が非常に速

く蓄積していくという，新しい進化経路を提唱した．応用研究については，複数残基が非天然型アミノ酸に置換されたタンパク質の進化工学を提案した．

なお，本論文は，東京大学の横山茂之教授，理化学研究所の坂本健作博士，小林隆嗣博士，樋野展正博士，柳沢達男博士，脇山素明博士，佐藤文博士，並びに，伊良波史枝氏，松元（林）明子氏，大竹和正氏との共同研究であるが，論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので，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．