

Title	ランダムなアミノ酸配列を持つ人工ポリペプチドからの触媒活性の進化
Author(s)	山内, 朝夫
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/44267">https://hdl.handle.net/11094/44267</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	山内朝夫
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 17210 号
学位授与年月日	平成 14 年 5 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科応用生物工学専攻
学位論文名	ランダムなアミノ酸配列を持つ人工ポリペプチドからの触媒活性の進化
論文審査委員	(主査) 教授 卜部 格  (副査) 教授 金谷 茂則    教授 小林 昭雄    教授 塩谷 捨明 教授 関 達治    教授 原島 俊    教授 福井 希一 教授 二井 将光    教授 室岡 義勝    教授 吉田 敏臣

#### 論文内容の要旨

本論文は、ランダムなアミノ酸配列を持つ人工ポリペプチドから酵素を進化的に創製する研究をまとめたものであり、緒論、本論 2 章、総括からなる。

緒論では、本研究の背景と目的、およびその意義について記述した。

第 1 章では、自然進化の影響を受けた天然酵素が持つ立体構造の単一性と高い触媒活性は、進化の過程で特殊化されたのか、という問題を検討した。進化の影響のない水溶性ランダムポリペプチド(約 140 アミノ酸) 2 種類の物性を解析した。これらは、天然酵素に見られるような特定の 2 次構造を備えていなかった。しかし、立体構造のコンパクトさは、変性状態の天然酵素の立体構造と比べて小さかった。また、エステル加水分解反応の触媒活性を調べたところ、2 種類とも触媒活性を有していたがその活性は微弱であった。これより、天然酵素に見られる特定の 2 次構造と高い触媒活性は、進化の過程で特殊化したと考えた。進化で触媒活性が特殊化することより、酵素の進化的創製の可能性を示した。

第 2 章では、ランダムポリペプチドからの触媒活性の進化実験を遂行した。ファージディスプレイ法を用いて、任意に選んだランダム配列 10 種類について、エステル加水分解反応の遷移状態アナログに対する親和性を調べたところ、配列によりその親和性が異なっていた。次に、10 種類の中から最も高い親和性を示す配列を選択し、次世代として、その配列に変異を加えた 9 種類の変異配列と親配列から構成される 10 種類のライブラリーを作った。この選択と変異操作を 6 世代まで繰り返した結果、アナログに対する親和性が増加し、また、その反応の触媒活性も増加していった。これより、進化が可能となる最初のランダムポリペプチドのライブラリーサイズ、そして、触媒活性が増加するのに必要なライブラリーサイズは、ともに 10 種類程度まで小さくできることがわかった。

最後に、以上で得られた知見を総括し、今回示したランダムポリペプチドからの酵素の進化的創製が、人工酵素の設計および蛋白質の立体構造問題の理解に与える影響を述べた。

以上、本論文ではランダムなアミノ酸配列を持つ人工ポリペプチドからの触媒活性の進化について論じた。

## 論文審査の結果の要旨

本論文では、ランダムなアミノ酸配列を持つ人工ポリペプチドの物性を解析することで、天然酵素に見られる高い触媒活性と特定の2次構造は進化の過程で特殊化した物性であることを述べている。この知見から、ランダムなアミノ酸配列を持つ人工ポリペプチドから進化的に酵素を創りえることを述べている。触媒活性の初期進化過程において、ライブラリーサイズを10種類程度まで小さくしても進化が可能であることを述べている。

以上のように本論文は、ランダムなアミノ酸配列からの酵素の進化的創製に関し、その可能性及びその初期進化過程を明らかにしている。ここにおいて得られた知見は、酵素の進化的創製に貢献するものであり、よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。