



Title	リポソーム内自己複製系の構築
Author(s)	北, 寛士
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49582
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【56】

氏名	北 寛 士
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 22537 号
学位授与年月日	平成20年9月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	リボソーム内自己複製系の構築
論文審査委員	(主査) 教授 福井 希一 (副査) 教授 原島 俊 教授 野地 博行 教授 福崎英一郎 教授 小林 昭雄 教授 大竹 久夫 教授 金谷 茂則 教授 清水 浩 教授 仁平 卓也 教授 四方 哲也

論文内容の要旨

本論文は、リボソーム内自己複製系の構築に関する研究をまとめたものであり、第1章(緒論)、本論3章、第5章(総括)からなる。

第1章では、人工細胞を構築する生物学的重要性について触れ、既知物質(精製、同定された物質)をもちいてリボソーム内で遺伝情報の自己複製反応系を構築する意義について記述した。

第2章では、リボソーム内部で行う自己複製反応を試験管内で構築した結果について示した。構築した反応は、Q β レプリカーゼ(RNA依存型RNA複製酵素)の触媒サブユニットである β サブユニットをコードしている遺伝情報分子RNAから、無細胞翻訳系中で複製酵素が生産され、次いで、この複製酵素によって遺伝情報分子RNAが複製される反応である。この反応は遺伝情報分子にコードされた複製酵素によって遺伝情報分子が複製する反応であり、本論文ではこれを自己複製反応とする。この反応系は、既存の生物システムの遺伝情報の複製系を模したものである。この反応系を構築するために、Q β レプリカーゼの無細胞翻訳系中での生産とRNA複製反応が同時に進行する反応条件の検討や材料の設計を行った。その結果、既知物質をもちいた自己複製反応系が試験管内で構築でき

た。

第3章では、試験管内で構築した自己複製系をリボソーム内で行った結果について示した。自己複製反応がリボソーム内部で進行したことを可視化するために、この反応の進行を、蛍光を用いて観測できるように反応系の改良を行った。この反応系をリボソーム内に封入し、自己複製反応が進行したことを顕微鏡による直接観測とフローサイトメトリー (FCM) をもちいた測定により明らかにした。

第4章では、リボソーム内自己複製反応をFCMで測定して得られたデータの解析結果を示した。リボソーム内反応の統計的な解析により、反応が確率的に進行していることを明らかにし、およそ1400分子の鋳型RNAあたり1回の反応が進行していたことを明らかにした。さらに、リボソーム内反応の経時変化を試験管内反応と比較し、両者が同等の反応確率で進行していることを示唆する結果を得た。

第5章では、このリボソーム内自己複製系がわずか144種類の遺伝子産物で構築できたことを示した。さらに、この自己複製反応系の進化能や今後の展望について議論した。

論文審査の結果の要旨

本論文では、人工細胞の構築にむけて人工脂質二重膜小胞 (リボソーム) 内での遺伝情報の自己複製反応系の構築について述べている。ここでの自己複製系とは、遺伝情報分子である核酸が、その情報にもとづき合成された複製酵素により複製される反応系である。この自己複製反応系は、既存の生物システムにみられる普遍的な反応系であり、人工細胞の基本骨格となる反応系である。

この自己複製系を遺伝情報分子としての RNA と再構成無細胞翻訳系を用いて構築した。構築した自己複製反応は、 $Q\beta$ レプリカーゼ (RNA 依存型 RNA 複製酵素) の触媒サブユニットである β サブユニットをコードしている遺伝情報分子 RNA から、無細胞翻訳系中で複製酵素が生産され、次いで、この複製酵素によって遺伝情報分子 RNA が複製される反応である。この反応系を構築するために、 $Q\beta$ レプリカーゼの無細胞翻訳系中での生産と RNA 複製反応が同時におこる反応条件の検討や材料の設計を行った。この反応系をまず試験管内で構築し、さらにリボソーム内でも反応が進行することを確認した。この自己複製反応は、144個の遺伝子産物 (rRNA (3種類), tRNA (46種類), リボソームタンパク質 (55種類), 翻訳因子 (38種類), レポータータンパク質, RNA 複製酵素) をリボソーム内に封入することで構成されており、現在最も簡略化された遺伝情報の自己複製反応系の1つである。

以上のように、本論文は人工細胞の構築を目指す研究分野の発展に新しい知見を加えることにより寄与し、さらには生物の初期進化に関する研究分野への貢献も期待できる。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。