

29 4種類のアミノ酸(GADV)からなる原始タンパク質の機能

A function of the primitive protein consisting of four kinds of amino acids

熊地 重文 (埼玉大・理工)、鈴木 美穂 (埼玉大・理工)、西垣 功一 (埼玉大・理工)、伏見 譲 (埼玉大・総研)、根本 直人 (埼玉大・理工)

Shigefumi Kumachi (Saitama Univ.), Miho Suzuki (Saitama Univ.),
Koichi Nishigaki (Saitama Univ.), Yuzuru Husimi (Saitama Univ.),
Naoto Nemoto (Saitama Univ.)

諸言：翻訳系の起源は生命の起源研究における最重要課題のひとつである。我々はRNAワールド後期からRNPワールドにかけて生じたと考えられる原始的なタンパク質の機能に注目した。原始的なタンパク質はアミノ酸の種類も限定されていると考えられるが、興味深いことにRNAによるコドン生成の観点(Eigenら)(1)とタンパク質配列解析(池原ら)(2)の2つの異なるアプローチから初期のアミノ酸はグリシン(G)、アラニン(A)、アスパラギン酸(D)、バリン(V)の4種類であると予想された。一方、タンパク質の初期進化モデルにおいてコード化されたタンパク質は遺伝子型-表現型対応付けとしてウイルス型戦略を採用した可能性が示唆されている(3)。そこで本研究ではGADVのみから構成されるペプチドライブラリーが翻訳系において中心的な役割を果たすtRNAに対し相互作用をするかどうかを試験管内選択実験(in vitro selection)によって検討した。

実験：標的分子であるtRNAをアガロースに固定しcDNA display法(4)によるin vitro selectionを行った。GADVをランダムにコードした30残基に相当するDNAライブラリーを転写後、ピュロマイシン・リンカーと連結させ、翻訳・逆転写をすることでcDNA-ペプチド連結体ができる。これを用いてselectionを行った結果、得られたペプチドを蛍光偏光解消法と蛍光相関分光法を用いて解析した。

結果：Selectionを3回行い複数のペプチド候補を得た。その中の1つはtRNAと100~200 μM程度の解離定数(K_D)を持つことがわかった。

- (1) Eigen, M, Schuster, P. The Hypercycle: A Principle of Natural Self-Organization, Springer-Verlag (1979)
- (2) Ikehara, K. Possible steps to the emergence of life: the [GADV]-protein world hypothesis, *Chem Rec.*, **5**, 107-118 (2005)
- (3) Nemoto N, Husimi Y. A model of the virus-type strategy in the early stage of encoded molecular evolution. *J Theor Biol.* **176**, 67-77 (1995)
- (4) Mochizuki, Y, et al. One-pot preparation of mRNA/cDNA display by a novel and versatile puromycin-linker DNA. *ACS Comb Sci.* **13**, 478-485 (2011)