

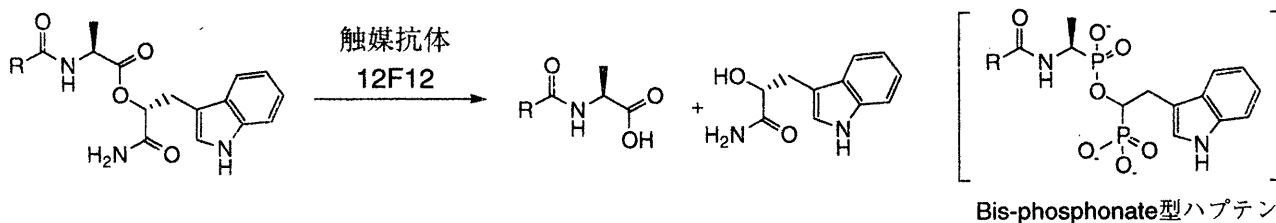
審査の結果の要旨

氏名 栗原伸和

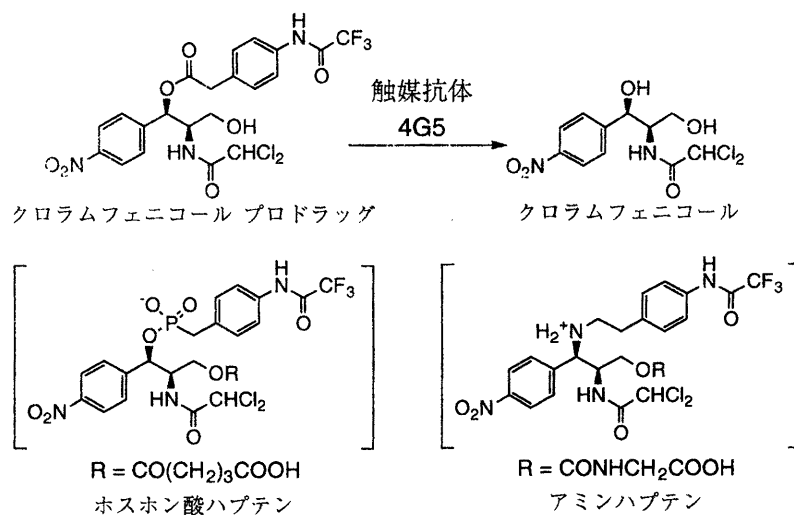
触媒抗体は、天然酵素と同様、反応の遷移状態と結合し安定化することで触媒作用を発現する抗体分子であり、抗体を作製する際に用いる抗原(ハプテン)を設計することで、あらゆる化学反応に対するオーダーメイドの人工触媒を創り出すことが出来る潜在的可能性を持った生体高分子として注目を集めている。1986年に触媒抗体の第一号が報告されて以来、プロドラッグの活性化反応や選択的有機合成反応等、種々の化学反応を触媒する抗体が作製され、化学、生物学、医学をはじめとした多岐にわたる分野でその実用化が期待されている。しかしながら現在の触媒抗体技術は、天然酵素の持つ複雑な触媒メカニズムや高い触媒活性を抗体内に実現するには至っておらず、今なお種々のアプローチによる研究が必要な段階にある。

一般に天然酵素は、「オキシアニオンホール」のみならず、「一般酸/塩基触媒」、「求核触媒」等の複数の触媒因子を協奏的に利用することにより高い触媒活性を獲得している。一方従来の触媒抗体の多くは、「オキシアニオンホール」、あるいは「一般酸/塩基触媒」といった単一の触媒因子のみを使って機能するように設計されているため概してその触媒活性は低く、天然酵素と同様、複数の触媒因子が機能する抗原結合部位を構築することが実用化に向けて不可欠と考えられる。また、有機合成試薬としての触媒抗体を考えた場合、幅広い化合物を基質として受け入れられる汎用性も要求されることから、基質特異性の広い触媒抗体の作製も一つの重要な課題である。このような観点から本研究は、(1)複数の触媒因子が機能する触媒抗体の創製、および(2)広い基質特異性を有する触媒抗体の作製をハプテン設計によるアプローチから試みたものであり、実用に耐え得る触媒抗体を作製するための方法論を確立することを目指したものである。

本研究では、複数の触媒因子を抗原結合部位に誘導する試みとして、第一に多官能性 Bis-phosphonate 型ハプテンを用いた触媒抗体の作製を行っている。本ハプテンは、「オキシアニオンホール」に加え第2の触媒因子を抗原結合部位に誘導するために、分子内に2つのホスホン酸を配置した、これまでにはない新規な構造を有しており、その免疫によってエステル加水分解活性を有する新規な触媒抗体 12F12 を獲得している。また、触媒活性の pH 依存性や3次元モデルによる検討から、His 残基を含む複数のアミノ酸残基の触媒メカニズムへの関与を示唆する結果を得ており、今後のハプテン設計における一つの方向性を示したものと考えられる。

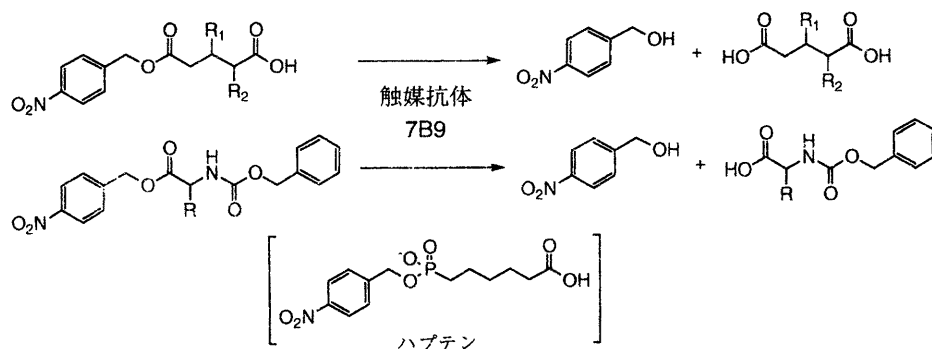


第二に、Heterologous immunization 法による触媒抗体の作製を行っている。触媒抗体 6D9 は、ホスホン酸ハプテンのみの免疫(Homologous immunization)によって作製され、クロラムフェニコールのプロドラッグをクロラムフェニコールに変換する加水分解抗体である。抗体 6D9 に第2の触媒因子を導入することでその高活性化が可能と考え、新たにアミンハプテンを設計、合成し、両ハプテンを用いた Heterologous immunization を行った。その結果、抗体 6D9 の触媒活性(k_{cat}/k_{uncat})を約 3 倍上回り、かつアミンハプテンに対しても強い結合能を有する新規な触媒抗体 4G5 を獲得している。また、触媒活性の pH 依存性や3次元モデルによる検討から、抗体 4G5 の触媒活性を His (L27d)および Tyr (H58)残基の触媒メカニズムへの関与により説明できることを明らかにしている。



触媒抗体に広い基質特異性を付与する試みとして、第三に *p*-ニトロベンジルエステルの脱保護反応を触媒する抗体の作製を行っている。高い抗原性を持つ *p*-nitrobenzyl phosphonate 部分と、免疫原性の低いアルキル鎖リンカー部分の2成分より構成されたハプテンを設計、合成し、その免疫により、 β -位あるいは γ -位にメチル置換基を有する化合物のみならず、 α -位に種々の置換基を有するアミノ酸エステル両光学異性体に対しても加水分解能を有する新規な触媒抗体 7B9 を獲

得している。このように基質の *p*-nitrobenzyl 部位のみを認識し、かつその他の部位については非特異性を示す抗体が得られたことは、触媒抗体試薬を実用化していく上で重要な知見である。また、抗体 7B9 の3次元モデルを既存の触媒抗体の X 線構造と比較することによって、本抗体の広い基質特異性が、その浅い抗原結合部位の構造により説明できることを明らかにすると共に、ハプテン設計におけるリンカー部位構造の重要性についても新しい知見を得ている。



本研究により、既存の触媒抗体の活性を上回る新規な触媒抗体を獲得すると共に、触媒抗体の高活性化のための方法論に関する知見を得ている。また、広い基質特異性を有する触媒抗体を作製すると共に、基質特異性の改良に関しても新しい知見を得ている。

以上、栗原 伸和の研究成果は、生物有機化学や蛋白質化学、医薬化学研究に資するところ大であり、博士(薬学)の学位を授与するに十分なものと認めた。