

予備審査の結果の要旨

論文提出者氏名 後藤 佑樹

翻訳反応は生体内で普遍的に行われているタンパク質合成系であり、遺伝情報をコードしたmRNAを設計図としてリボソームがアミノ酸を順につなぎ合わせていくことでタンパク質が正確に合成される。この合成系はその精密な配列制御から、優れたペプチド合成法であると考えられるが、通常の翻訳反応では20種類の天然アミノ酸からなるペプチドしか合成できず、特にD-アミノ酸に代表されるような特殊骨格は基質とならないといった欠点も併せ持つ。本論文では翻訳合成系を改変することでこの問題を克服し、特殊骨格含有ペプチドの翻訳合成を可能にした新技术を報告している。

序論では、有機化合物の合成ツールとしての翻訳合成系、特殊骨格含有ペプチドの医薬品としての可能性、及び以前までの翻訳合成系で特殊骨格含有ペプチドを合成しようと試みた場合の限界について概観している。

1章では、翻訳産物のN末端への様々な骨格の導入を可能にする、開始反応のリプログラミング法を新たに開発している。つまり、様々なアミノ酸を結合させた開始tRNAを網羅的に調製し、メチオニンを除いた翻訳系に加えることで、翻訳反応を開始できることを解明している。この手法を用いることで、メチオニンのみに限定されず、様々なアミノ酸(20種類の天然アミノ酸全て)をN末端に持つペプチドの翻訳合成に成功している。また、脂肪酸・ピログルタミン酸・翻訳後修飾可能な官能基などの多種多様なアシル基修飾を持ったアミノ酸でも開始反応の開始が可能であることも明らかにしている。これらの手法は、天然に見られるN末端に修飾基を持つ生理活性ペプチドを直接翻訳合成する新規技術となる。

2章においては、1章で確立した技術を利用し、D-アミノ酸が翻訳開始反応の基質になるかどうかを網羅的に調査している。その結果、用いた19種類のD-アミノ酸全てが、翻訳開始反応において、開始残基として受け入れられることを見出している。天然アミノ酸の光学異性体であるD-アミノ酸が翻訳系に受け入れられた報告はこれまでになく、全く新規な発見である。D-アミノ酸は生理活性ペプチドに多く見受けられる特殊骨格であり、ここで得られた成果は科学的にも応用的にも非常にインパクトが大きい。

3章では、通常アミノ酸が結合したtRNAが働く開始反応において、短鎖ペプチドが結合したtRNAでも機能するか調べた研究について報告している。本章ではまず、アミノアシルtRNA合成リボザイムであるフレキシザイムが、様々なペプチド

を基質とでき、ペプチジル tRNA 合成の汎用技術としても利用できることを実証している。さらに、ここで合成したペプチジル開始 tRNA を用いた場合でも、開始反応が進行することを見出している。これにより、D-アミノ酸・ β -アミノ酸・N-メチルアミノ酸・アミノ安息香酸などの各種特殊骨格を複数含むペプチドの翻訳合成に成功している。

4 章では生理的条件下で安定な大環状骨格をとるペプチドの翻訳合成について述べている。1 章で開発した技術を利用し、N 末端にクロロアセチル基を導入したペプチドを合成している。この時、ペプチド配列中にシステイン残基を存在させることで、翻訳反応条件下で速やかに求核置換反応が進行しチオエーテル結合で閉環した大環状骨格が構築させる新技術を開発している。実際に、本技術を用いて抗癌性ペプチドとして知られる G7-18NATE を翻訳合成することに成功している。さらに、チオエーテル環状ペプチドのライブラリーの構築を行うことでも、本技術の実用性を実証している。

5 章においては、 α , β -不飽和アミノ酸の一種であるデハイドロブチリン (Dhb) を含有するペプチドの翻訳合成について報告している。ここでは、ビニルグリシンが翻訳の伸長反応に効率良く取り込まれた後、前駆体ペプチドが翻訳反応条件下で容易に不可逆的異性化を起こし、翻訳反応後に Dhb へと変換されるという方法を確立している。さらにペプチド中にシステイン残基を配置することで、マイケル付加反応を経て、抗菌性天然物として知られる lantibiotic 系ペプチドに見られる環状骨格を形成することに成功している。

6 章においては、新概念の翻訳合成系である「dual genetic code expression 法」を開発している。AUG 以外の複数のコドンが開始コドンとして機能すること、さらにそれら改変開始コドンに利用されたコドン配列が同一翻訳系中で改変伸長コドンとしても機能することを実証している。本手法は翻訳系の制御系に関する新たな知見を見出すための研究ツールとして利用可能であるだけでなく、多様な N 末端構造を持つペプチドライブラリーを効率よく構築する工学的な応用も可能である点に言及している。

結論では、本論文の総括と意義、今後の展望について述べている。

以上、本論文では、翻訳合成系を利用し特殊骨格含有ペプチドを合成するための、独創性の高い複数の新規技術が提案・実証されている。これらの成果が、今後のバイオテクノロジー及びケミカルバイオロジーの発展に与える意義は非常に大きい。よって、本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格であると認められる。