

審査の結果の要旨

氏名 川上隆史

リボソームは、鋳型 mRNA (DNA) をポリペプチドに、遺伝暗号表にしたがって配列変換 (翻訳) する巨大な生体触媒である。このリボソームを中心とした翻訳系により合成されるペプチド化合物のコンビナトリアルライブラリーは、その鋳型 DNA が増幅可能である点から、非常に多様な ($\sim 10^{13}$) ライブラリーからのリガンドスクリーニングに適用でき、また、特定配列 (群) の単離 (デコンボリューション・クローニング) が容易に行えるといった特徴を持つため、薬剤候補化合物などの小分子リガンド探索法として、有用な研究手法の一つである。特に、このリボソーム翻訳系を人工的に改変することによって非天然型の構成要素を持つ翻訳ペプチド (ライブラリー) を構築する手法は、極めて有用な小分子リガンド探索手法となり得、特に、生体内 (*in vivo*) で機能すべき薬剤などの探索につなげることを指向した場合には、ペプチド分解酵素耐性や細胞膜透過性、構造剛直性を付与する非天然骨格を取り入れることが極めて重要である。

本論文では、遺伝暗号リプログラミングという技術を用いてリボソーム翻訳ペプチド合成系を人工的に改変することでこれらの目的の達成を目指し、翻訳ペプチドにペプチド分解酵素耐性や細胞膜透過性、構造剛直性を付与する非天然主鎖骨格を導入する新技術を報告している。

第1章は序論であり、リボソーム翻訳ペプチドライブラリー合成系の特徴、ペプチドに分解酵素耐性や細胞膜透過性、構造剛直性を付与する構造、翻訳ペプチドに非天然型の構造を導入するための既存の方法、そして、遺伝暗号リプログラミング技術を用いる重要性について論じ、本研究の目的と意義を述べている。

第2章では、遺伝暗号リプログラミング技術を利用した翻訳ペプチドへの N メチル化ペプチド骨格の導入について述べている。その第1節では、様々な側鎖構造を持つ N メチルアミノアシル tRNA を用いて、リボソーム翻訳系に対する N メチル化アミノ酸の基質特異性について調べ、翻訳ペプチドに導入可能な

N メチル化アミノ酸に要求される側鎖構造に関する知見について明らかにしている。また、第2節では、第1節で得られた知見を基に、様々な側鎖構造を持つ N メチル化ペプチドの翻訳合成を行い、遺伝暗号リプログラミング技術を用いることによって、翻訳ペプチドに多くの N メチル化ペプチド骨格を導入可能であることを示している。

第3章では、遺伝暗号リプログラミング技術を利用した翻訳合成産物へのペプトイド骨格の導入について述べている。第1節では、様々な置換基を有する N 置換グリシル tRNA を用いて、リボソーム翻訳系に対する N 置換グリシンの基質特異性について調べ、翻訳ペプチドに導入可能な N 置換グリシンに要求される置換基の構造に関する知見について明らかにしている。また、第2節では、第1節で得られた知見を基に、様々な置換基を持つ N 置換グリシンからなるペプトイドの翻訳合成を行い、遺伝暗号リプログラミング技術を用いることによって、翻訳合成産物にペプトイド骨格を導入可能であることを示している。

第4章では、リボソーム翻訳系内で鋳型 DNA から主鎖環状ペプチドをワンポットで翻訳合成する方法を報告している。第1節では、翻訳ペプチド内のシステイン-プロリン-エステル骨格がチオエステル骨格へと自発的に変換可能であることを示している。第2節では、ペプチド脱ホルミル化酵素およびメチオニンアミノペプチダーゼを用いて N 末端ホルミルメチオニンを除去し、翻訳ペプチドに遊離のアミノ基を持つ N 末端システインを構築できることを示している。そして、第3節では、上記のチオエステル骨格と N 末端システインとの選択的連結反応を用いて、鋳型 DNA から主鎖環状ペプチドをワンポットで翻訳合成することに成功している。また、本環状化技術は遺伝暗号リプログラミング技術と組み合わせることにより、翻訳合成された主鎖環状ペプチドに N メチル化ペプチド骨格を導入することも可能であることを示している。

第5章では、ホスフォノペプチドの翻訳合成を目指し、その基盤技術であるアミノホスホン酸を tRNA に連結する新規リボザイムの開発について述べている。

第6章では、本研究を総括すると共に、生体内 (*in vivo*) で機能すべき非天然骨格を供えた翻訳ペプチド化合物ライブラリーから薬剤候補化合物などの小分子リガンドを取得するという今後の展望について述べている。

以上のように、本論文は *in vivo* で機能を可能とする非天然骨格をもつペプチドの翻訳合成技術について述べられたものであり、今後、薬剤のみならず、生体分子の機能制御や標識に利用可能な研究ツールなどの開発にも大きく貢献をするものである。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。