

審査の結果の要旨

氏名 岩崎一浩

本論文は、クロロアセチル (ClAc) 基を有するアミノ酸をペプチド中に導入し、ペプチド鎖中のシステイン (Cys) 残基と反応させて、環状化したペプチドについての研究である。応用面として、このような特殊環状ペプチドの薬剤候補としての有用性を示している。また、科学的な観点から、ペプチド中に複数の Cys 残基が存在する場合の反応の選択性について述べている。

第 1 章では背景として、多種多様な非タンパク質性アミノ酸を翻訳系によりペプチド中に導入することができる Flexible In-vitro Translation (FIT) システムと、ペプチド中に導入された非タンパク質性アミノ酸を用いたペプチドの環状化について述べている。ClAc 基と Cys 残基の反応によるペプチドの環状化が他の環状化技術よりも優れている点について触れ、このような特殊環状ペプチドを薬剤候補として探索する上で標的タンパク質とした、上皮性細胞接着分子 (EpCAM) について詳細に記述している。また、ペプチド中にシステイン残基が二つ存在する場合の結合形成の可能性と、その結合形成の選択性を明らかにする意義を示している。

第 2 章では、mRNA ディスプレイ法を用いて、EpCAM に結合する特殊環状ペプチドを探索し、実際に得られた特殊環状ペプチドが EpCAM に強く結合することを示した。得られたペプチドの環構造が EpCAM への結合に重要であることや、システイン残基を二つ有するペプチドではいずれのシステイン残基も EpCAM への結合に重要であること、フレームシフトしたペプチドではポリアラニンも EpCAM への結合に寄与していることを明らかにした。また、フルオレセインでラベルしたペプチドを用いて癌細胞の標識に応用することに成功した。さらに、抗体では染色できない密集した細胞においても、ペプチドを用いることで染色できることが示されており、癌細胞の塊を効率的に染色する新たな道具として、ペプチドの有用性が期待される。

第 3 章では、N 末端 ClAc 基と二つの Cys 残基を有するペプチドにおける、チオエーテル結合形成の選択性を MALDI-TOF-MS および MALDI-TOF/TOF-MS に

よる解析から明らかにした。さらに、ペプチドの主鎖にエステル結合を導入し、翻訳後に加水分解によりペプチドを切断することで、その切断パターンからより詳細な解析を行った。また、結合形成の選択性が、N 末端 ClAc 基と三つの Cys 残基を有する種々の配列と長さのペプチドでも保存されることが示されており、二環ペプチドライブラリーの構築に応用できると期待される。

以上、本論文は FIT システムにより実現された特殊環状ペプチドライブラリーの構築と、mRNA ディスプレイ法を組み合わせることにより、非常に大きな多様性のペプチドの中から、EpCAM に強く結合する特殊環状ペプチドの探索に成功している。さらに、EpCAM が上皮性腫瘍で過剰発現されていることから、実際に癌細胞の標識に応用することに成功している。次に、これまで十分に研究されていない、ClAc 基と複数の Cys 残基との反応の選択性について、結合形成を同定する手法を確立して明らかにした。さらに、今回明らかとなった結合形成の選択性が二環ペプチドライブラリーの構築に応用できることも示唆し、将来的展望を示している。本論文により、ClAc 基と Cys 残基のチオエーテル結合形成により得られる特殊環状ペプチドが癌細胞の標識に有用であることが示された。また、これまで知られていなかった、ClAc 基と複数の Cys 残基とのチオエーテル結合形成の選択性について解明され、二環ペプチドライブラリー構築の道が示された。

本論文では、EpCAM に特異的に結合する特殊環状ペプチドの発見、ならびに Cys 残基が 2 つ以上存在する特殊ペプチドにおいて N 末端 ClAc 基との環状化の選択性について新たな知見を提供した。ここに示される研究成果は、今後のペプチド阻害剤探索ひいてはペプチド創薬の発展へ貢献するものであり、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。