

審査の結果の要旨

氏名 森本 淳平

ファージディスプレイや mRNA ディスプレイなどの各種ディスプレイ法の発達により、高多様性ペプチドライブラリから迅速に標的タンパク質に結合するペプチドを選択（セレクション）することが可能となってきた。こうした手法は低分子化合物のハイスループットスクリーニングのように1化合物1ウェルで評価するのではなく、ペプチドライブラリ全てを1つの容器内で標的と混合し結合したペプチドだけを回収するという形式をとるため、低コストかつ迅速に高多様性のペプチドをセレクションすることができる。しかしながらこうした手法を阻害剤探索に適用する場合には本論文で示されているようないくつかの課題が残されている。本論文で挙げられる一つ目の課題は、こうした手法においてペプチドが標的との親和性のみを指標に獲得されるため必ずしも標的の活性部位に作用する阻害ペプチドが獲得されるとは限らないという点である。二つ目に挙げられている課題は、ペプチド一般が細胞内移行性および生体内安定性が低いために得られたペプチド阻害剤が細胞や生体で利用することが困難であるという点である。本論文ではこうした課題に取り組み、ヒト脱アセチル化酵素サーチュインに対する細胞内で機能する阻害剤の開発に成功している。

第一章では本論文全体の導入部として、まず上述した阻害剤探索におけるディスプレイ法の課題を述べその解決法について言及している。まず、一つ目の課題については、機能性側鎖をペプチドライブラリ中に導入することで克服することが提案されている。また、二つ目の課題については、ペプチドの細胞内移行性や分解耐性の評価とそれに基づくペプチド配列の最適化がその克服のために必要であることが述べられている。また本章では、第二章以降での標的となる脱アセチル化酵素サーチュイン、その触媒作用に基づいて設計されたトリフルオロアセチルリシン (K^{Tfa}) 残基などの機能性アミノ酸側鎖、こうした機能性側鎖を有するペプチドライブラリの構築およびスクリーニングを可能とする技術 FIT (Flexible In vitro Translation) システムと RaPID (Random nonstandard Peptide Integrated Discovery) システム、など本論文に関わる主要な分子・方法論についての説明がなされている。

第二章では、遺伝暗号を改変した無細胞翻訳系である FIT システムを用いて K^{Tfa} 含有環状ペプチドライブラリを構築し、これを mRNA ディスプレイ法と組み合わせた RaPID システムによってヒトサーチェインの一つ SIRT2 に対してセレクションすることで阻害ペプチドの探索を行っている。得られた多数のペプチド配列が全て SIRT2 を阻害することから効率的に阻害剤が獲得されたことが示され、また、得られたペプチドのうち2つの配列について定量的な評価を行うことで、SIRT2 に対して強力で選択的な阻害能が得られたことが示されている。本章で獲得された阻害ペプチドは SIRT2 の生体内での機能を解明するための分子ツールとして有用であるだけでなく、SIRT2 との関連が知られる神経変性疾患やがんなどへの薬剤候補物質としての可能性も秘めている。

第三章では、まず第二章で得られたペプチドが細胞内でサーチェインを阻害することができないことが示され、続いてこの原因が細胞内移行性およびプロテアーゼ耐性が非常に低いことにあることを明らかにしている。さらにこの結果を受けペプチドの配列や機能性側鎖の構造を最適化することで、ペプチドの細胞内移行性およびプロテアーゼ耐性を向上させた。これによって *in vitro* だけでなくヒト培養細胞内でもサーチェインを阻害することのできるペプチドの創出に成功している。本章の最後ではサーチェインを阻害することによってアセチル p53 の上昇を引き起こすことに成功しており、本章で創出された阻害ペプチドが今後がんへの治療効果を示すことが期待される。

最後に付随的な章として第二章で獲得された環状ペプチドの一つと SIRT2 の共結晶構造が示されている。この結晶構造から、まずトリフルオロアセチルリシン残基が狙い通り SIRT2 の活性部位に結合し、環状ペプチド全体が SIRT2 と非常に緊密な相互作用をすることで非常に強い相互作用を達成していることがわかる。また、以前に報告されている SIRT2 単体の結晶構造との比較から SIRT2 の構造が大きく変化していることも示されている。このような標的の構造変化を伴う結合様式を示す阻害剤を理論的に設計することは困難であり、本論文で示されたランダムペプチドライブラリのスクリーニングによる阻害剤探索法の有用性が裏付けられているといえる。SIRT2 と基質との共結晶構造はこれまで報告がなく、本章で示されている複合体構造が SIRT2 の基質認識への重要な知見となることも期待される。

本論文では、ペプチド阻害剤探索におけるディスプレイ法の課題とその解決法が示され、実際にサーチェインを標的としてその方法論の有用性が実証されている。ここに示されるアプローチ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。