

審査の結果の要旨

氏名 エムディー シャミン レザ

ペプチドは、生体内でプロテアーゼ等により分解されるため安定性が低く、また細胞膜を透過することができないため、薬剤として開発するには不向きとされている。しかし、近年の当研究室の研究で考案された特殊環状ペプチド創出技術により、疾患標的蛋白質に非常に高い親和性（阻害活性）をもつ化合物が得られただけでなく、ペプチド自体の生体安定性を著しく向上することができた。一方で、細胞内の疾患標的蛋白質を標的にした場合、上記の特殊環状ペプチドでは、十分な膜透過性が得られない問題が残っていた。レザ・MD・シャミン氏は、全く新しい発想で、水溶性環境下と脂溶性環境下で、ダイナミックな構造変化をもち得る擬似2環ペプチドを考案し、その合成法と探索法を開発し、また生理活性物質の探索に挑んだ。

第一章では、これまでの一般的なペプチドと特殊ペプチドの相違点について、その背景を説明している。また、特殊ペプチドを合成・探索するにあたり、菅研究室で開発された技術、FIT システムおよび RaPID システムの技術的な背景を説明している。その中で、今回の主題であるダイナミック仮想2環ペプチドの構想に至った背景についても言及している。また、本研究により創出されるダイナミック仮想2環ペプチドライブラリーから活性種を単離する実証例として挑んだアルギニン脱メチル化酵素 PAD4 について、その生理活性および生物学的意義、さらにこれまで知られている PAD4 阻害剤の背景について記述されている。

第二章においては、無細胞翻訳系によって構築したダイナミック仮想2環ペプチドライブラリーのデザイン、実験的な前検証、さらに実際の合成法について、その実験プロセスを詳細に説明している。特筆すべき点は、今回の実験において、成功の可能性を最大限にするための方策として、2種類の異なる環状様式をもつペプチドライブラリーをデザインし、その合成検討を行っている。

その結果、いずれのライブラリーの構築にも成功し、実証例に両ライブラリーをあてるための技術基盤を確立した。続いて、上記で確立した翻訳合成法を RaPID システムに取り込み、PAD4 に強固に結合するダイナミック仮想 2 環ペプチドの探索を行った。その結果、活性種の濃縮に成功、獲得したダイナミック仮想 2 環ペプチドに関して、その解離定数を SPR 技術により決定した。その解析の結果、各ペプチドの解離定数が 30~50 nM という非常に強い結合能力を持つことが判明した。さらに、阻害活性を既存のアッセイ法で解析した結果、ダイナミック仮想 2 環ペプチドの濃度依存的に阻害剤としての挙動を占めることがわかった。しかし、残念ながらその活性は解離定数とは 3 オーダーほど値が悪かった。そこで、ダイナミック仮想 2 環ペプチドに存在するアルギニン残基に共有結合形成型核弾頭 (Warhead) を導入、その阻害活性を計測したところ、既存の阻害剤よりも 3~5 倍の強い活性を示すことがわかった。さらに、ダイナミック仮想 2 環ペプチドが、期待通り膜透過性もつかの検討も進めている。ダイナミック仮想 2 環ペプチドに蛍光基を付与した化合物をヒト細胞に投与したところ、細胞への取り込み、さらには核への局在化が観測された。現時点で、その分子メカニズムについては不明であるが、非常に興味深い観測である。今後のさらなる研究の進展に言及している。

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。

また付録として、本論文に記述した新規の研究と同時平行に進めた、通常の環状特殊ペプチドについても第二章と同様の検討を行った結果を示している。特筆すべき点は、結合能力についてはダイナミック仮想 2 環ペプチドと同等レベルの活性をもっているが、共有結合形成型核弾頭を導入しても、阻害活性の著しい向上は見られなかった。また膜透過性は悪く、ダイナミック仮想 2 環ペプチド構造の有用性が証明されている。

以上より、本論文では新しい発想のダイナミック仮想 2 環ペプチドという概念を打ち出し、独創性の高い新技術が提案・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 (学術) の学位請求論文として、合格と認められる。