

論文審査の結果の要旨

氏名 加藤保治

主鎖骨格修飾をもつペプチドは、生物活性を示すペプチド性天然物や人工のペプチドに広く見られ、その簡便な合成法の開発は優れた特性をもつ新規生物活性ペプチド創出につながると期待できる。本博士論文は、無細胞翻訳系と翻訳後脱水複素環化酵素 PatD、そして化学修飾を組み合わせることで、多様な主鎖骨格修飾ペプチドを *in vitro* で簡便に合成する技術を確認したものである。

本博士論文は 4 章からなる。第 1 章は序論であり、主鎖骨格修飾ペプチドの薬剤候補化合物としての可能性について述べ、その合成法として翻訳後修飾反応の有用性について論じている。

第 2 章では、主鎖骨格にチアゾール構造をもつペプチドの *in vitro* での合成法の開発について報告している。ペプチド主鎖骨格中のチアゾール構造は生物活性を示す天然物に広く見られる構造であり、チアゾール含有ペプチドを簡便に合成する技術の開発は、優れた新規生物活性ペプチド創出への応用が期待される。モデル実験において、脱水複素環化酵素 PatD により連続するチアゾリン構造がペプチドに導入される際、副産物としてチアゾール-チアゾリン構造が形成することを加藤氏は見出し、この副反応を積極的に利用することでチアゾール含有ペプチドの *in vitro* 合成を行うことを着想した。実際に脱水複素環化酵素 PatD による酵素修飾の後に、化学的に酸化反応を行うことで、チアゾール-チアゾリン構造が得られることが分かった。加えて、遺伝暗号リプログラミング法を用いて位置特異的な重水素ラベル化を行うことで、酸化反応によるチアゾール構造の形成が位置特異的に進行することが明らかとなった。本研究により確立された酸化反応は種々のペプチド配列に適用可能であることも示され、汎用的なチアゾール含有ペプチドの *in vitro* 合成法が確立された。

第 3 章では、主鎖骨格に $\Psi[\text{CH}_2\text{NH}]$ 及びチアゾリジン構造をもつペプチドの *in vitro* での合成法の開発について報告している。チアゾリジン構造は生物活性を示すペプチド性天然物に見られる構造であるが、様々な基質を許容し、任意の配列に対してチアゾリジン構造を導入できるような翻訳後修飾酵素はこれまでに報告されていない。加藤氏は第 2 章において確立した、酵素反応と化学反応を組み合わせるアプローチをとることでアゾリジン含有ペプチドの *in vitro* 合

成が可能になるのではないかと着想した。モデル実験において、脱水複素環化酵素 PatD によりチアゾリン構造をペプチドに導入し、これを化学的に還元することで、目的のチアゾリジン構造に相当する分子量変化に加えて、 $\Psi[\text{CH}_2\text{NH}]$ 構造形成に相当する分子量変化が観察された。推定された $\Psi[\text{CH}_2\text{NH}]$ 構造の形成は、小分子を用いたモデル実験により確認され、酵素的な脱水複素環化酵素と化学的な還元反応を組み合わせることで、チアゾリジン構造及び $\Psi[\text{CH}_2\text{NH}]$ 構造をペプチドに導入可能であることが示された。この還元反応は種々のペプチド配列に適用可能であり、既知のラジカル的な脱硫反応を組み合わせることでさらに多様なペプチド配列をもつ $\Psi[\text{CH}_2\text{NH}]$ 含有ペプチドを合成できることが示された。

第 4 章は結論であり、研究全体のまとめと展望について述べている。本研究は、PatD による酵素的な脱水複素環化反応と化学的な反応を組み合わせることにより主鎖骨格修飾ペプチドを試験管内で簡便に合成する技術を確立したものである。これらの手法はペプチド翻訳後修飾反応による構造多様性を拡張したものであり、既存の進化分子工学的手法と組み合わせることで優れたペプチド薬剤候補化合物の創出に寄与するものと期待できる。

以上のことより、本審査会委員は総意のもと、加藤保治氏の学位請求論文は博士(理学)の学位授与に十分資すると認め、合格の判定を下した。