

# Development of Ribosome-Mediated Thioester Bond Formation and Its Application to Backbone Macrocyclization of Peptides

その他のタイトル	リボソームによるチオエステル結合の形成とペプチド主鎖環化反応への応用
学位授与年月日	2017-03-23
URL	<a href="http://doi.org/10.15083/00075640">http://doi.org/10.15083/00075640</a>

## 論文審査の結果の要旨

氏名 高辻諒

タンパク質の合成を担うリボソームは、通常のアミド結合（ペプチド結合）の形成の他にも適切な改変翻訳型を用いることでエステル結合や N-アルキルアミド結合などといった結合を形成できることが知られている。しかしチオエステル結合はエステル結合のアナログでありかつその反応性から多くの応用に用いることができるにも関わらず、リボソームによって形成された例はこれまでに報告されていなかった。本博士論文ではこのリボソームによるチオエステル結合形成を報告し、さらにこの技術を用いることでこれまでにできなかった応用を生み出すという独自性の高い研究を行っている。

本論文は4章からなる。第1章は序論であり、チオエステル結合の有用性とリボソームによってチオエステル結合を形成させることの意義が述べられている。またチオエステル結合を利用することで合成できる主鎖環化ペプチドの医薬品候補物質としての有望さ、そしてその主鎖環化ペプチドを画期的なペプチドのスクリーニング手法である *in vitro* ディスプレイへと適用させることの困難さ及びその意義が述べられている。

第2章ではリボソームによるチオエステル結合の形成について報告している。高辻氏は修士課程の研究において、芳香族を側鎖にもつ  $\alpha$ -チオ酸を基質として翻訳反応を行うことによりリボソームがチオエステル結合を形成できることを確認している。本博士論文中ではこのチオエステル結合形成についての知見を深めたのち、その成果をタンパク質の半合成へと用いることでこのチオエステル結合形成技術の応用性を示した。また本章では既存のタンパク質-チオエステルの合成法と比較した時の、本技術の利点についても述べられている。

第3章では *in vitro* ディスプレイの一種である mRNA ディスプレイに適用できる主鎖環化ペプチドの合成法について報告している。mRNA ディスプレイでは、表現型であるペプチドの C 末端がピューロマイシンを介して遺伝子型である mRNA に結合されていることで、 $10^{12}$  種類ほどのペプチドライブラリーから標的タンパク質に強力かつ選択的に結合するものを探索することが可能となっている。しかしこの表現型-遺伝子型間の結合が必要であるという制約のため、ペプチドの N 末端と C 末端がアミド結合で連結された主鎖環化ペプチドをこれ

まで mRNA ディスプレイに用いることができなかった。本博士論文では、リボソームによるチオエステル結合形成技術を用いた主鎖環化と、主鎖環化後も表現型-遺伝子型間の結合を維持するための複雑な転移反応を伴った戦略によりこの問題を解決し、mRNA ディスプレイに適用可能な主鎖環化ペプチドの合成を達成した。開発された合成法は mRNA ディスプレイによるペプチドスクリーニングにおける知見をもとに練られたものであり、この成果は生理活性を持つ主鎖環化ペプチドの開発のための重要な一里塚となることが期待される。

第4章は結論であり、研究全体のまとめと将来の展望について述べている。これまで一般にリボソームがチオエステル結合を形成できると考えられていなかったにも関わらず、それが可能であることが示された。本博士論文ではさらに、タンパク質の半合成や主鎖環化ペプチドの合成への応用を通してこの技術の有用性を示した。リボソームによって直接チオエステル結合を形成させる本技術は、チオエステル等価体を合成してからチオエステルへと変換する従来の手法と比べて多くの利点や特徴を持つ。この特徴を生かすことで、特に第3章で示したようにこれまでにできなかった応用例が可能となり、ケミカルバイオロジーの発展に資することが期待される。

以上のことより、本審査会委員は総意のもと、高辻諒氏の学位請求論文は、化学、生化学、薬学の進歩に寄与できる十分な研究成果が記載されており、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。