

審査の結果の要旨

氏名 シヴァニ ディキシット

シヴァニ ディキシット氏提出の論文「Chemical synthesis of ubiquitin derivatives to understand the ubiquitin code and its role with nucleosome stability (ユビキチンコードおよびヌクレオソーム安定性における役割を理解するためのユビキチン誘導体の化学合成)」は、4章から構成されており、ユビキチンタンパク質の完全化学合成をベースに、いくつかの GG 分岐ユビキチン類縁体やユビキチン修飾ヒストンの化学合成を確立し、それらの分子構造について論じたものである。

第1章では、本論文の背景と概要について論述している。背景については2セクションに大きく分けられており、前半では、ユビキチン化を含むエピジェネティクスについてのこれまでの研究を概述している。後半は、これまでに知られているタンパク質化学合成とこれを用いたユビキチン合成について解説している。最後に本論文の構成について述べている。

第2章では、GG 分岐ユビキチン類縁体の化学合成について述べている。ユビキチン化はタンパク質の翻訳後修飾としてよく知られており、プロテアソーム依存的なタンパク質分解の誘導に加えて、シグナル伝達やタンパク質の輸送などを制御する。このユビキチンの多彩な機能は、ユビキチンの構造多様性に由来する。ユビキチン修飾には、モノユビキチン化に加えて、8種類の異なる連結様式を含むポリユビキチン鎖、混合鎖、分岐鎖が存在しており、さらに鎖長も重要な要素となるため、これらのユビキチン構造に内包された膨大な情報はユビキチンコードと称されるに至っている。しかし、その存在量や機能、役割について未知なものが多く、コードの全容は未だ不明である。その最も大きな障壁となっているのが、個々のユビキチン修飾の構造多様性・不均一性であり、定義された構造（連結様式や長さなど）をもつユビキチン鎖を調製することが困難であることが、ユビキチン研究の進展を妨げている。そこで、ディキシット氏は、ユビキチンコードの定量解析のための安定同位体標識 GG 分岐ユビキチンの合成を検討した。ディキシット氏は、ユビキチンを2つのフラグメントに分割して、それらのフラグメントペプチドの合成、ケミカルライゲーション

によるフラグメントの連結、ライゲーションに用いられたシステインの脱硫反応によってユビキチンを化学合成するルートを確立した。さらに、ディキシット氏は、存在の可能性が高いユビキチン鎖を対象に、その酵素分解生成物である各種の GlyGly 転移ユビキチンおよび ^{13}C , ^{15}N 安定同位体で標識した各種の GlyGly 転移ユビキチンを合成した。これらの合成ユビキチンのフォールディング解析により、合成 GlyGly 転移ユビキチンが分子生物学的手法で得られたユビキチンと同様の立体構造を有していることが確認された。ディキシット氏の研究結果は、ユビキチンを単に合成することができたというだけでなく、ユビキチン定量構造解析のプローブが得られたとともに人工的な修飾をユビキチンの任意の位置に導入可能になったことを示しており、今後のユビキチン医薬研究において極めて価値が高いと言える。

第3章では、ユビキチン修飾ヒストンの化学合成について述べている。ポリコム複合体によるユビキチン化で得られる H2AK119ub は遺伝子発現抑制に寄与することが知られている。しかし、H2AK119ub と他のエピジェネティック修飾の間のクロストークを解析が必要であり、また、H2AK119ub を含むヌクレオソームやクロマチンの熱的安定性の議論も進んでいない。そこで、ディキシット氏は、H2AK119ub の化学的再現を行った。H2AK119ub の合成において、上述のユビキチン合成法と H2A ヒストンタンパク質合成法を組み合わせる方法が検討された。ディキシット氏は、Gly 連結補助基を付加した K119 をふくむ H2A フラグメント (C 末端側 1/3) を合成し、H2A フラグメントの K119 に対して合成したユビキチンの C 末端を連結する方法を確立した。その後、H2A の残りのフラグメントを連結して全長の H2A を完成させることによって H2AK119ub を得た。合成 H2AK119ub のフォールディング解析により、合成 H2AK119ub が H2A とユビキチンが合わさった立体構造を有していることが確認された。以上のように、ディキシット氏は、ヒストンユビキチン化解析のためのプローブ合成技術を確立した。

第4章では、本論文で示したユビキチン合成技術の特徴と有用性を示し、今後の展望を述べている。本研究では、新たに創出したユビキチン合成技術が、従来の分子生物学的手法では実現できないユビキチン機能化を可能にしている。この成果を用いることによってユビキチンコードの分子レベルでの理解が飛躍的に進展すると期待され、研究の将来像について議論している

以上、本論文で研究されたユビキチン合成技術は、ユビキチン創薬が進展しつつある現状を踏まえると、有益な創薬研究ツールの提供に大きく寄与する。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。