

論文審査の結果の要旨

氏名 木村寛之

翻訳系は 20 種類のタンパク質性アミノ酸からペプチドを合成する系である。一方で天然の生理活性ペプチドの多くは酵素による変換や合成で複素環骨格などのペプチド類似体構造を獲得しており、この構造はペプチドの機能を高めていることが知られている。近年、翻訳系におけるアミノ酸の制限を取り払う「遺伝暗号リプログラミング技術」が確立され、多様なペプチド類似体が翻訳系で合成可能となった。しかし、これまでの精力的な翻訳系改良をもってしてもなお合成困難なペプチド類似体も見出されている。ペプチド類似体を酵素的あるいは化学的に合成する手法も開発されてはいるが、前者では配列自由度の低さ、後者では翻訳系中の水分子や他因子が与える影響が課題となっていた。

木村寛之氏の博士論文は、翻訳系での様々なペプチド類似体の合成法を開発し、上記課題を克服するものである。また翻訳系でのアミノアシル tRNA と翻訳伸長因子 EF-Tu の結合力が翻訳活性に与える影響を調べたものである。本論文は全 6 章から成る。第 1 章では翻訳系やペプチド類似体について総括されている。第 2 章と第 3 章ではチオアミドの翻訳導入とチオアミドをチアゾールへ変換する手法が記述されている。第 4 章と第 5 章では EF-Tu・アミノアシル tRNA 結合力が翻訳活性に与える影響が解析され、特に第 4 章では *N*-メチルアミノ酸を効率的に導入する手法が記述されている。第 6 章では本論文の内容が総括されている。

第 1 章は、翻訳系に内在する基質選択機構やペプチド類似体の効能/生合成経路について記述している。

第 2 章は、Rumit Maini 氏と共同で確立したチオアミド型ペプチドの翻訳合成法を記述している。まず Maini 氏が遺伝暗号リプログラミング技術によるチオアミド型ペプチドの翻訳合成を実証した。木村氏はこの共同研究において、大環状骨格へのチオアミド導入実証や、副次的に発生するアミド型ペプチドの生成原因を解析し、本手法の確立に重要な役割を果たした。

第 3 章は、主鎖チオアミドを複素環(チアゾリン、チアゾール)に変換する手法を記述している。木村氏は隣接したチオアミドとシステイン間で自発的に複素環形成反応が進行しチアゾリンが生成することを初めて示した。さらに脱水素酵素 GodE がチアゾリンをチアゾールへ変換できることを示した。特に GodE 反応は、酵素反応ながらも広い基質許容性を示したので、木村氏の開発した本手法はこれまでの酵素的手法に比べて配列自由度が高い。また環化・脱水素反応は水中の温和な条件で進行するので、他の化学的手法に比べて実用性が高い。

第 4 章は、岩根由彦氏と共同で確立した、EF-Tu とアミノアシル tRNA の結合力を調節し *N*-メチルアミノ酸を複数導入する手法について記述している。まず岩根氏が、tRNA の T-ステム領域の改変により EF-Tu 結合力を自在に調節でき、さらに結合力の調整が *N*-メチルアミノ酸導入効率向上に寄与することを示した。木村氏はこの共同研究において、9 種類の *N*-メチルアミノ酸を同時に含む複雑な特殊ペプチドの翻訳合成を達成し、本手法の実用性の高さを示す重要な役割を果たした。

第5章は、EF-Tuのアミノアシル tRNA 認識能について記述している。木村氏はアミノアシル tRNA 3'末端のアミノ酸を認識する EF-Tu ポケットに点変異を導入し、アミノアシル tRNA に対する結合力変化を解析した。その結果ポケット中の E215、D216 残基が特に重要であることを見出した。この 2 残基は先行研究で基質アミノ酸の大きさを認識する役割があると指摘されていたが、本論文では基質アミノ酸の大きさによらず結合力が変化することが見出され、大きさ認識以外の役割があると示唆された。また EF-Tu の活性に不可欠な M260、F261 を新たに見出した。さらなる機能解析には結晶構造などが必要だと記述されている。

第6章は、本論文全体の結論および今後の展望について記述している。本論文で開発されたペプチドミメティクス合成法は新規生理活性ペプチドの創出に繋がると期待される。また EF-Tu の活性を担う残基の解析は、今後の EF-Tu 改変に繋がると期待される。最後に本論文は翻訳系の実用性を高め、また翻訳系に対する理解を深めるもので、さらなる翻訳系研究の発展に資すると総括されている。

なお第2章は Rumit Maini 氏、高辻諒氏、加藤敬行氏、後藤佑樹氏との共同で、また第4章は岩根由彦氏、加藤敬行氏との共同で研究遂行し論文発表されたものであるが、それぞれの研究において木村氏の不可欠な寄与があり、共同筆頭著者として中心的な役割を果たしたと判断した。

以上により、本審査会委員は総意のもと、木村寛之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。