

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 田口 翔大

田口 翔大氏は環状ペプチドライブラリを用いた、標的との親和性を指標としたセクションにて **COVID-19** 感染症治療薬候補及びタンパク質蛍光タグの候補となるペプチドを探索した。その結果得られた、それぞれ狙いの活性を持つペプチドの詳細活性を検証し、明らかにした。

Chapter 1 では、低分子やタンパク質と比較した際のペプチドの特性および優位性について述べ、それらを活かしたペプチドの幅広い応用例を挙げることで、ペプチドの多様な用途を示した。その後、狙いの活性を持つペプチドの探索のための *de novo* ペプチドセクション系を比較し、その中でも高いライブラリの多様性を持つ *in vitro* セクション法の詳細を説明した。

Chapter 2 では、**COVID-19** 感染症治療薬候補の探索を目的として、**Chapter 1** にて説明した手法を用いた **SARS-CoV-2** スパイクタンパク質を標的とした環状ペプチドセクションを実施した。同定されたペプチドの一つである **STL5-1** は K_D が **pM** レベルという非常に高い標的親和性を示し、かつウィルス感染に重要なスパイクタンパク質と **ACE2** との相互作用を **nM** レベルと強く阻害した一方で、ウィルス感染阻害活性は **μM** レベルと非常に弱かった。これら活性強度に解離の原因は、実際のウィルス表面上には様々なスパイクの状態があり、これら全てを **STL5-1** が阻害できていないことである可能性を示した。そして、それらスパイクに対する阻害剤の併用が **STL5-1** のウィルス感染阻害活性改善のアプローチであることを言及し、その阻害剤探索を目的とした新たなセクション結果についても説明した。また、**STL5-1** は単一のドメインに結合するという単純な様式ではなくドメイン間にまたがり結合する、かつ **RBD** が **up** の状態を認識するという非常にユニークな結合様式であることが示された。**STL5-1** はデルタ株のスパイクに対しても親和性を示した事実も含め、本結合様式は変異株へも有効な新たな感染阻害メカニズムの解明に貢献することが期待される。最後に、別研究との比較から、ペプチドを用いたスパイク阻害剤探索には **RBD** よりエクトドメインの方が優れているという、標的の適性に関する知見を明らかにした。抗体を用いた場合と異なる本傾向は抗体とペプチドの分子量の違いであ

り、両者それぞれスパイク阻害剤としての利点を持つことを考察した。本知見は今後のウィルス感染症治療薬の迅速な探索に貢献するものと期待される。

Chapter 3 では、従来のタンパク質蛍光タグの大きい分子量という課題を解決するべく、より小さいペプチドベースのタグの開発を試みた。**Chapter 1** で示したセレクション法にて **fluorogen** の一種である **HBC** と結合し活性化するペプチドの探索を行った。得られた 7 種のペプチドのうち **HL2** 及びその直鎖ペプチドである **HL2 linear** は **HBC** の蛍光強度を 35 から 48 倍に増強させる、蛍光タグとして適した活性を有することが確認された。本活性には **HL2 linear** のペプチド配列全体が重要であり、特にリンカーが誘起するヘリカルな立体構造が寄与している可能性が示唆された。また、**HBC** の誘導体を用いることで蛍光波長を変更可能という、蛍光タグとしての利便性につながる **HL2 linear** の活性も確認した。さらに **HL2 linear** の配列をタンパク質に導入することでタンパク質の蛍光強度を約 3 倍に増強させた。これら成果は **HL2 linear** の蛍光タグとして利用可能性を示しており、配列最適化による更なる活性改善のアプローチについても言及している。

Chapter 4 では、**Chapter 2, 3** にて実施した本研究の総括と得られた知見及びその有用性、今後の展望について述べている。

以上より、本論文ではペプチドの高い標的親和性を活かして、ウィルス感染治療薬または蛍光タグそれぞれに適した活性を持つペプチドを **in vitro** セレクション系にて探索及び同定し、詳細な活性の解明がなされている。これらの成果が、今後のペプチド創薬、ケミカルバイオロジー及び細胞生物学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（工学）の学位請求論文として合格と認められる。