

審査結果の要旨

論文題目「セレン含有アミノ酸およびペプチドの合成と酵素モデルとしての応用」

学位申請者 下平 伸吾

本論文は、セレンを含むアミノ酸であるセレノシステインとそれを原料とするセレノペプチドの効率的な化学合成法の開発、およびセレノペプチドの酵素モデルとしての応用に関する研究である。

第1章では、効率的なセレノシステイン及びセレノペプチドの合成法が必要とされる理由、すなわち本論文の学術的な背景と意義が述べられている。セレノシステインを含むタンパク質は数多く知られているが、それらの生物学的な機能の解明が遅れている現状を分析し、セレン含有タンパク質をモデル化したセレノペプチドを有機合成によって合成することが、セレン含有タンパク質の機能解明への最も現実的なアプローチであることが示されている。遺伝子工学的な手法を用いてセレン含有タンパク質を大量に入手することは、当分は困難であろう。このことを考えると、本論文においてセレノペプチドを化学合成することに着眼した点は理にかなっている。現状ではセレノペプチドを化学合成することも容易ではないことを考慮すると、本論文は独創的であり、かつ学術的にも意義の大きいものであるといえる。

第2章では、セレノペプチドの合成原料となるセレノシステイン誘導体の新規合成法の開発について述べられている。セレノシステイン誘導体の合成法はいくつか知られているものの、実験操作が難しく、収率が低いなどの問題点がある。また、市販品を購入することもできるが、高価であり、セレノペプチドの合成原料として用いるには向かない。本章では、セレノシステイン誘導体の既知の合成ルート进行分析することによって、目的化合物を安価かつ大量に得るための新規合成ルートが考案され、実際にその合成ルートが有効であることが証明されている。合成ルートの開発段階では、セレノシステインのラセミ化が起こるという困難にも直面したが、この問題を再結晶法によって解決することに成功し、結果として、安価なL-セリンを原料として5段階で目的化合物のセレノシステイン誘導体を通算収率70%以上で合成することに成功している。以前の合成法に比べると、収率で約40%、収量でも2倍近い合成の効率化が達成されている。セレノシステイン誘導体を安価かつ大量に得るための手法が開発されたことで、セレノペプチドの化学合成を展開する上での研究基盤が確立されたといえる。

第3章では、生体内還元物質であるグルタチオンのセレン類縁体（セレノグルタチオン）の化学合成とその酸化還元反応について詳細な検討が行われている。セレノグルタチオンの合成法については、既にいくつかの報告があるが、いずれも低収率かつ低収量でしかセレノグルタチオンは得られていなかった。本章では、液相ペプチド合成法の反応条件を最適化することで、セミグラムスケールのセレノグルタチオンを通算収率98%、3段階で合成することが達成されている。本章ではさらに、得られたセレノグルタチオンを用いて過酸化水素や種々のチオールとの酸化還元反応を行い、生成した活性な化学種が ^{77}Se NMR や MS 解析などによって同定されている。その結果、セレノグルタチオンがセレン含有酵素であるグルタチオンペルオキシダーゼと同様の抗酸化触媒作用をもつことが示され、触媒サイクルの全容が初めて明らかにされている。また、セレノグルタチオンがグルタチオンレダクターゼによって認識されることを利用して、セレノグルタチオンがミスフォールドしたジスルフィド含有タンパク質を正常な天然状態へとリフォールドする触媒作用をもつことも明らかにされている。このことは、セレノグルタチオンがプロテインジスルフィドイソメラーゼの酵素モデル化合物としても有用であることを示している。本章では、

既知物質のセレノグルタチオンを例としてセレノペプチドの効率的な化学合成法が示されているが、セレノペプチドの大量かつ安価な合成法が確立できたことは、今後、セレノペプチドを様々なセレン含有タンパク質の酵素モデルとして応用できることを示唆しており、将来の発展が大いに期待できる研究成果であるといえる。

第4章では、まだ合成されたことのない環状構造をもつセレノペプチドの合成が検討されている。合成ターゲットとして、グルタチオンペルオキシダーゼの活性中心に存在すると予測されている触媒テトラッドをモデル化した環状セレノペプチドがデザインされている。この環状セレノペプチドでは、触媒テトラッドを構成する4つのアミノ酸、すなわちセレノシステイン、グルタミン、トリプトファン、アスパラギンが1個おきに配置されており、モデル計算によって各アミノ酸の側鎖が互いに近づきやすいことが示されている。目的の環状セレノペプチドは、分子内ネイティブケミカルライゲーション法を応用することによって合成計画通りに得られている。本章で述べられた合成法は、環状セレノペプチドの合成法としてユニークな合成戦略が用いられており、ペプチド合成の分野にも大きなインパクトを与えうるものである。得られた環状セレノペプチドのグルタチオンペルオキシダーゼ様触媒活性の測定より、テトラッド構造の存在を支持する実験結果が得られており、環状セレノペプチドの有用性を示す重要な研究成果であるといえる。

第5章では、本論文を総括し、主要な研究成果がまとめられている。セレノシステイン誘導体や鎖状及び環状セレノペプチドの効率的な化学合成法が確立されたことは、セレノペプチドを用いたセレン含有タンパク質の機能解明に向け、その研究基盤を与えるものである。本論文では、実際にセレノグルタチオンや環状セレノペプチドがグルタチオンペルオキシダーゼやプロテインジスルフィドイソメラーゼの酵素モデルとして有用であることが実証されており、本論文の研究成果は学術的な価値が高いと評価できる。

以上の結果、本論文は学位論文として十分な内容を有するものと審査委員全員の一致で判定された。

したがって、申請者 下平伸吾は東海大学博士（理学）の学位を授与されるに値すると判断した。

論文審査委員

主査	博士（理学）	大場 真	理学部教授	（総合理工学研究科総合理工学専攻）
委員	理学博士	稲津 敏行	工学部教授	（総合理工学研究科総合理工学専攻）
委員	博士（農学）	笹川 昇	工学部教授	（総合理工学研究科総合理工学専攻）
委員	理学博士	大場 武	理学部教授	（総合理工学研究科総合理工学専攻）
委員	博士（理学）	岩岡 道夫	理学部教授	（総合理工学研究科総合理工学専攻）