





学位論文審査結果報告書

報告番号	北里大 乙 第1544号	氏名	増田 陽介
論文審査担当者	(主査) 北里大学 教授 志鷹 真由子 (副査) 北里大学 教授 広野 修一 (副査) 北里大学 准教授 西端 芳彦 (副査) 昭和大学 教授 合田 浩明	   	
〔論文題目〕 水分子の動的解析によるセリンプロテアーゼの可逆的共有結合性阻害剤の研究			
〔論文審査結果の要旨〕 共有結合性阻害剤は、生体内の標的タンパク質の働きを、共有結合を形成することにより阻害する。可逆的共有結合性阻害剤は、形成される共有結合が可逆的であるため、不可逆的共有結合性阻害剤よりも毒性を示す可能性が低い。そこで増田氏は、可逆的共有結合性阻害剤として有望な化合物を、それ以外の化合物から判別することにより選別するためのインシリコ手法の確立を目的として、セリンプロテアーゼであるトリプシンを標的タンパク質として、本研究を行った。 本研究は、以下の(1)～(3)より構成される。 (1) アシルートリプシンの結晶構造解析 ガベキサートは、トリプシンの酵素活性を可逆的な共有結合を形成し反応機構依存的に阻害する。本研究ではまず、ガベキサートのアシルートリプシン中間体の結晶構造解析を行った。この結晶構造は、脱アシル化反応を阻害する硫酸イオンを除いた結晶構造で、酵素反応に最適な pH で解析されたものである。得られた結晶構造と、Protein Data Bank に登録されている他のアシルートリプシン中間体の結晶構造を用い、結晶構造中の求核的水分子の配置を表す幾何学的パラメーターと酵素反応速度定数とを比較した。結果、求核的水分子の静的特性(幾何学的配置)に基づき、可逆的共有結合性阻害剤と基質様化合物を判別することは困難であった。 (2) 水分子の動的解析による求核的水分子のインシリコ研究 (1)の結果をうけ、(2)では求核的水分子の動的特性に着目し、計算科学的アプローチにより阻害剤と基質様化合物を判別する手法の研究を行った。分子動力学計算及び水和熱力学解析により水分子を動的に解析し、求核的水分子の熱力学的特性と酵素反応速度との関係を解析した結果、求核的水分子が求核的水サイトにおいて獲得するギブズ自由エネルギー(Δ			

G_{wat}) が判別の際の重要な指標となる可能性が示された。





(3) 線形判別分析による阻害剤と基質様化合物の判別

(2) の結果を発展させるために、より多くの共有結合性リガンドを対象とし、線形判別分析を行うこととした。線形判別モデルの構築には、 ΔG_{wat} の他に、共有結合性リガンドの反応性の指標として、アシル化された Ser195 のカルボニル基の反結合性軌道 (π^*) の軌道エネルギー E_{orb} を半経験的分子軌道計算により求め用いた。線形判別分析の結果、 ΔG_{wat} と E_{orb} を合わせて用いることにより、効果的な判別が可能であることが示された。

以上のように本研究では、可逆的共有結合性阻害剤として有望な化合物を、それ以外の化合物から判別するインシリコ手法の開発を行った。本研究成果は、実験 (X 線結晶構造解析) から得られた静的特性では困難であった判別を、計算科学的アプローチにより可能にしたものであり、共有結合性阻害剤の開発において初期段階で有望な化合物を見出すための有用な手法になるものと思われる。本手法の有用性は、現時点ではトリプシンにおいてのみ検証されているが、今後、トリプシン以外の酵素における適用性が確認できれば、創薬への貢献も大きいものと期待できる。

以上より、増田氏の研究は博士 (薬科学) の学位を授与するに十分値するものと判断した。

最終試験結果報告書

報告番号	北里大 乙 第 1544号	氏 名	増田 陽介
論文審査担当者	(主査) 北里大学 教授 (副査) 北里大学 教授 (副査) 北里大学 准教授 (副査) 昭和大学 教授	志鷹 真由子 広野 修一 西端 芳彦 合田 浩明	   
<p><u>成 績</u></p> <p>合 格</p> <p>[試験結果の要旨]</p> <p>試験担当者は、2018年6月12日に審査委員会を開催し、増田陽介氏に対して、学位論文内容および関連事項に関する諮問を行った結果、十分な学力があるものと認め、合格と判定した。</p> <p>以 上</p>			