

## 論 文 内 容 要 旨

報 告 番 号	甲 創 第 6 号	氏 名	辻 耕平
学位論文題目	Synthetic studies on CXCL14 and its derivatives for their biological evaluation		
<p><b>【背景】</b> CXCL14 は 1999 年に単離された CXC 型ケモカインの一種である。ケモカインとして免疫細胞の遊走活性を示す他、抗腫瘍活性、肥満性糖尿病増悪作用、抗菌活性など多岐に亘る生理活性が報告されている。しかし、その受容体は未だ同定されておらず、本タンパク質の活性を制御する分子も見出されていないため CXCL14 に関する研究は他のケモカイン類に比し遅れているのが現状である。しかし、最近我々の研究グループは CXCL14 がケモカイン CXCL12 の受容体である CXCR4 と結合し、CXCL12 阻害活性を有することを明らかにした。そこで今回著者は多様性指向型タンパク質化学合成法の開発を基盤とする CXCL14 機能制御分子の創製研究を行うこととした。</p> <p>長鎖ペプチド、タンパク質の化学合成では、ペプチドチオエステルと N 末端システイン間での化学選択的縮合反応である Native Chemical Ligation (NCL) 法が汎用されている。三成分以上のフラグメントを縮合させる場合、中間フラグメントとして N 末端システイン含有ペプチドチオエステルが必要となるが、その分子内 NCL 反応の抑制のため、N 末端システイン残基への保護基の導入が不可欠であった。この N 末端保護システイン含有ペプチドチオエステルを用いる手法では C 末端フラグメントを多段階合成の最初のステップで用いるため、N 末端側の多様化には適するものの、C 末端側の多様化には不適である。したがって、C 末端側への多様性の付与を容易にする合成手法の開発が求められている。</p> <p><b>【結果】</b> アミノ酸 77 残基からなる CXCL14 を三つのフラグメントに分け、それぞれを N 末端フラグメント (Fr)、中間 Fr、C 末端 Fr とした。中間 Fr として N 末端保護システイン含有ペプチドチオエステル (中間 Fr 1) および N 末端システイン含有ペプチドチオカルボン酸 (中間 Fr 2) を C 末端側から N 末端側および N 末端側から C 末端側へのペプチド鎖の順次縮合にそれぞれ用いた。中間 Fr 1 を用いた C 末端側から N 末端側への段階的 NCL 法により CXCL14 の化学合成を達成した。一方で、中間 Fr 2 を用いた段階的 NCL 法では、N 末端側から C 末端側へのペプチド鎖の順次縮合が可能であったため、C 末端側の多様化に適した方法であると考えた。しかし本手法は操作の煩雑さおよび収率の面で課題を残していた。そこで当研究室で開発された <i>N</i>-sulfanylethylanilide ペプチドを中間 Fr として用いることで、N 末端側から C 末端側へのペプチド鎖の縮合を one-pot にて簡便に行うことに成功し、収率の改善もみられた。これら合成法を用いて種々誘導体を合成、活性評価に付したところ、合成 CXCL14 およびその誘導体が発現 CXCL14 と同等の活性を有することを明らかにした。さらにビオチン標識体を用いた FACS 解析により CXCL14 の CXCR4 への結合も証明した。</p> <p>続いて CXCL14 の CXCR4 への結合部位を種々の CXCL14 誘導体を用いて調査した結果、CXCL14 は C 末端領域 (50-77) を介して CXCR4 へ結合していることが示唆され、本領域の二量体が CXCL14 と同等の CXCL12 阻害活性を有していることを明らかにした。さらに活性残基の抽出を指向し、種々変異体、誘導体の合成および活性評価を行った。その結果、CXCL14 (52-72) 領域が活性発現に重要であることおよび当該領域の芳香族アミノ酸残基 (W64, Y65, W68) が協奏的にその活性に関与していることが示唆された。</p>			