

論文審査の要旨および学識確認結果

報告番号	甲 第 号	氏 名	井岡 秀二
論文審査担当者：			
主査	慶應義塾大学教授	農学博士	井本 正哉
副査	慶應義塾大学名誉教授	工学博士	西山 繁
	慶應義塾大学教授	工学博士	鈴木 孝治
	慶應義塾大学准教授	理学博士	宮本 憲二
	慶應義塾大学准教授	博士(工学)	高橋 大介
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>学士(理学)、修士(理学)井岡秀二君提出の学位請求論文は、「Development of novel imaging system by using firefly bioluminescence (ホタル生物発光を利用した新規イメージングシステムの開発)」と題し、全4章から成っている。</p> <p>ホタルは、発光基質ホタルルシフェリンと発光酵素ホタルルシフェラーゼが反応することで発光を示す。その発光輝度やS/N比の高さから、バイオイメージングツールとしてケミカルバイオロジー分野において広く応用されている。本論文では、有機合成化学的手法を基盤として、発光基質ホタルルシフェリンの構造に注目し未だ明らかとなっていない発光酵素ルシフェラーゼの基質特異性の解明と、その結果を用いた新しいホタルイメージングツールの開発を行った。</p> <p>第1章は序論であり、ホタル生物発光の性質や過去に開発されたホタルイメージングツール並びにその問題点を既述している。</p> <p>第2章では、今まで検討例が少なかったホタルルシフェリンのチアゾリン環部位の構造を改変した新規ルシフェリンアナログの合成、生物発光評価、並びにチアゾリン環部位の構造が発光活性に与える影響を検討している。ホタルの生物発光は、発光色が単色であること、発光輝度が低いこと、発光のコントロールが行えないことなど、様々な問題点がある。そこで著者は、その問題を解決するためホタルルシフェリンのどの構造がそれぞれどのように発光に寄与しているか検討した。ホタルルシフェリンはベンゾチアゾール環とチアゾリン環の2つの環構造を有する化合物である。過去の構造活性相関研究から、ベンゾチアゾール環部位の構造は発光色に影響することが解明されたが、チアゾリン環部位に関する報告例は極めて少なく、十分な知見が得られていなかった。そこで著者はチアゾリン環部位を改変した7種類の化合物を合成し、生物発光測定を行った。その結果、チアゾリン環の代わりに鎖状構造を有するルシフェリンアナログは生物発光を示さなかったのに対し、チアゾリン環の硫黄原子がCH₂基に置換したカルボルシフェリンは、ホタルルシフェリンより弱いものの生物発光活性を示すことが明らかとなった。次に著者は、カルボルシフェリンの発光強度が低下した原因について検討した。ホタルの生物発光は、AMP化反応、酸化反応、ジオキセタン開裂反応、エネルギー変換反応と多段階反応であるが、それぞれの反応過程を調査した結果、カルボルシフェリンの発光活性が低下した原因はAMP化反応速度が大きく低下したからであった。これらのことから、チアゾリン環部位の構造はルシフェラーゼの酵素反応、特にAMP化反応に非常に大きく影響しているという結論を得た。</p> <p>第3章では、第2章の結果を用いてホタル生物発光の新規OFF-ONイメージングの開発を行っている。チアゾリン環部位を鎖状構造にした生物発光を示さない化合物N-Ac-γ-グルタミンルシフェリンを設計し、合成した。本化合物に酵素アミノアシラーゼを作用させると酵素反応に伴い環化反応が進行し、生物発光を示すカルボルシフェリンへと誘導されることを見出した。さらにその際にルシフェラーゼを共存させておくと、アミノアシラーゼが存在しないときは発光を示さず、存在するときは発光を示すことがわかった。このように、酵素ルシフェラーゼ認識部位であるチアゾリン環部位の構造変換に注目した新しいOFF-ONイメージングの開発に成功した。</p> <p>第4章では、総括として本研究の結果を生かした発光強度を向上させる手法や新しいイメージング手法への展開例を記した。</p> <p>本論文の成果は、ホタル生物発光の現状の問題点を解決するだけでなく、今後のホタル生物発光を応用する際の分子デザインに大きく貢献できると考えられる。よって、本論文の著者は博士(理学)の学位を受ける資格があるものと認める。</p>			
学識確認結果	学位請求論文を中心にして関連学術について上記審査会委員で試問を行い、当該学術に関し広く深い学識を有することを確認した。 また、語学(英語)についても十分な学力を有することを確認した。		