

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	西原 諒
論文審査担当者：	主査	慶應義塾大学教授	Dr. sc. nat. チッテリオ ダニエル
	副査	慶應義塾大学教授	博士（工学） 栄長 泰明
	副査	慶應義塾大学教授	博士（理学） 藤本 ゆかり
	副査	慶應義塾大学名誉教授	工学博士 鈴木 孝治
	副査	慶應義塾大学名誉教授	工学博士 西山 繁
(論文審査の要旨)			
<p>学士（工学）、修士（工学）西原諒君提出の学位請求論文は、「Synthetic Coelenterazine Derivatives for Bioluminescent Imaging」（生物発光イメージングのための合成生物発光基質セレンテラジン誘導体）と題し、6章より構成されている。</p> <p>発光基質を酵素が触媒する酸化反応によって光を放出する生物発光は、バイオイメージングで頻繁に用いられている蛍光測定で問題となる励起光由来のバックグラウンドシグナルの影響がない。そのため、生物発光測定法は蛍光測定法以上に高感度かつ非侵襲的な光イメージング法として近年注目されている。しかしながら、天然物を用いたこれまでの生物発光系では発光輝度が低いためにイメージング感度が十分ではなく、生体組織透過性の高い近赤外領域(650-900 nm)の波長で発光を示す生物発光系はほとんどない。そこで本研究は、有機合成的手法に基づく新規の発光基質セレンテラジン(CTZ)誘導体開発と遺伝子工学的手法に基づく赤色発光酵素開発との両技術開発により、これまでの課題を解決する新規人工生物発光系の開発を行なっている。</p> <p>第1章では、生物発光によるバイオイメージング技術について概説し、本研究の目的を述べている。</p> <p>第2章では、生物発光基質セレンテラジン(CTZ)の6位炭素から分子構造を拡張した新規CTZ誘導体の設計・合成とウミシイタケ発光酵素系における光学特性について述べている。開発した数種のCTZ誘導体のうち、6-pi-Phenyl-CTZは発光酵素RLucの変異体(RLuc8.6-535)が高輝度発光を示し、その発光輝度は市販のCTZ誘導体(DeepBlueC™)の約25倍を示している。</p> <p>第3章では、多成分同時分析のための発光酵素RLuc8.6-535およびALucに特異的に反応するCTZ誘導体開発について述べている。2位または6位置換基を改変した15種類のCTZ誘導体を設計・合成し、酵素との網羅的構造活性相関を探索することで、発光酵素ALucまたはRLuc誘導体に特異的に反応する新規基質を見出している。更に、新規基質とALucまたはRLuc誘導体に基づくタンパク質間相互作用検出プローブと組み合わせることで、2種類のタンパク質相互作用を同時に解析することのできる新たなデュアルアッセイ系の創製に初めて成功している。</p> <p>第4章では、CTZ6位水酸基をアルキル化した誘導体を20種類合成し、RLuc8.6-535変異体との発光特性を検討することで、CTZ6位置換基の酵素認識への効果をより詳細に調べている。このうち6-Al3OMe-2H-CTZは、生細胞においてDeepBlueC™の約50倍の発光輝度を示す高輝度基質であることが確認されている。新規高輝度基質は、高解像度での癌細胞のシングルセルイメージングを可能にするだけでなく、赤色発光変異酵素(iRFP-RLuc8.6SG)と組み合わせることで、マウス生体深部における癌細胞イメージングも可能にしている。</p> <p>第5章では、赤色発光CTZ誘導体開発について述べている。第2-4章で述べたCTZ誘導体は、いずれも400-500 nmに生物発光を示す青色発光基質である。そこでさらなる発光波長の長波長化を目指して、CTZ6位置換基に有機蛍光色素を修飾し、BRET機構に基づくCTZからのエネルギー移動で蛍光色素が発光する分子を設計・合成することで、生物発光波長の長波長化に成功している。</p> <p>第6章では、結論として各章で得られた内容を総括し、生物発光研究分野における新規基質の位置づけと、本研究がもたらす将来の展望を述べている。</p> <p>以上要するに、本研究では、従来技術より優れた光学特性を持つ生物発光系の創製に成功しており、その実用性が立証されている。このような研究は、分析化学や生命科学分野へ貢献するものであり、工学上、工業上寄与するところが少なくない。よって、本論文の著者は博士（工学）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	<p>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および総合デザイン工学特別研究第2（マテリアルデザイン科学専修）科目担当者で試問を行い、当該学術に関し広く深い学識を有することを確認した。</p> <p>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。</p>		