The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	新規六員環架橋型人工核酸の合成と物性に関する研究
Author(s)	大澤, 昂志
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/52256
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　　大澤　昂志　　）	
論文題名	新規六員環架橋型人工核酸の合成と物性に関する研究

論文内容の要旨

架橋型核酸2’,4’-BNA/LNAは、著しく高い相補鎖RNA結合親和性と高い核酸分解酵素耐性能を有していることが知られている。一方で、当研究室を始めとした世界中で、2’,4’-BNA / LNAの更なる機能向上を目指した数々の架橋型核酸が開発されてきた。その中で、架橋型核酸の物性とその架橋環サイズの間に相関があることが見出されてきた。すなわち、架橋型核酸を導入したオリゴヌクレオチドは、その架橋環サイズが大きくなるに従って核酸分解酵素による分解を受けにくくなる一方で、RNA結合親和性は徐々に低下していく傾向が見られる。また、現在までに開発された五員環架橋型核酸の物性を比較することで、架橋環サイズが同じでも、その化学構造の違いによって物性が大きく異なることが明らかにされてきた。一方で、六員環架橋型核酸においては、架橋環構造や化学修飾が物性に与える影響についてさえ、あまり検討されていない。しかし、六員環架橋型核酸の中には、二重鎖の水和による安定化を狙って、ヘテロ原子を多く導入された2’,4’-BNA^{NC}のように、2’,4’-BNA/LNAを上回る優れた核酸分解酵素耐性能と、それに匹敵するRNA結合親和性を有するアナログも存在する。この例を見てもわかるように、六員環架橋型核酸は、架橋環構造の最適化次第で極めてポテンシャルが高い分子にできる可能性を秘めている。

以上のような背景の下、六員環架橋型核酸をベースに新しい人工核酸の設計と開発を行い、同時にその架橋環構造と物性の相関について調べた。具体的には、二重鎖の水和による安定化を狙って、水素結合アクセプターとなるカルボニル基を導入した六員環アミド架橋型核酸、架橋環内部にsp^2炭素を導入することで架橋環のゆらぎを抑え、RNA結合親和性の向上を狙ったジヒドロピラン架橋型核酸 (DpNA)、さらに、4’位にアセタール構造を導入することで、糖部構造の固定と物性の向上を狙った一連のEoDNA類の開発を行った。

六員環アミド架橋型核酸については、D-グルコースから11工程で合成可能な文献既知のリボース誘導体を出発原料として、13工程を経てそのアミダイト体の合成を達成した。一方で、DpNAとEoDNA類の合成については、5-メチルウリジンを出発原料とすることで、DpNAアミダイトを12工程で、EoDNA類のアミダイト体を9工程から15工程で、非常に簡便に合成できる経路を確立した。六員環架橋型核酸の合成には、一般的にD-グルコースから約20工程も要するため、簡便でかつ短工程で合成できるDpNAやEoDNA類は、人工核酸素材として大きなメリットを持っていると考えられる。

そして、合成した六員環架橋型核酸の相補鎖核酸に対する結合親和性、並びに核酸分解酵素耐性能の評価を行ったところ、六員環アミド架橋型核酸の物性評価の結果から、架橋環にカルボニル基を導入すると架橋環が立体的に大きくなり、相補鎖DNA結合親和性の低下と核酸分解酵素耐性能の向上をもたらすことを明らかにした。DpNAについては、その物性評価の結果から、架橋環内部へのsp^2炭素の導入によって架橋環が平面的な構造をとると、ジヒドロピラン環が高極性の3’位リン酸部をマスクすることで疎水性が高くなった結果、RNA結合親和性が低下する可能性があることを見出した。また、架橋環が占める体積が小さくなることで、核酸分解酵素の認識を受けやすくなることが明らかになった。さらに、EoDNA類の物性評価によって、RNA結合親和性には4’位のアセタール構造が、核酸分解酵素耐性能には架橋環に修飾したメチル基の位置や向きが非常に重要であることを見出した。

また、今回合成したすべての架橋型核酸の物性評価の結果から、六員環架橋型核酸においても、sp^3炭素上の水素原子を含めた架橋環を構成するすべての原子の空間的位置のわずかな違いが、その物性に大きな影響を与えうることを新たに見出した。本研究を通じて得られた架橋環構造と物性の相関に関する知見を、今後の新規人工核酸の設計に活かすことで、アンチセンス核酸などの核酸医薬や、人工核酸を用いた様々なテクノロジーへと展開できるような優れた物性を有する人工核酸の開発につながると考えられる。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　大澤　昂志　）		
論文審査担当者	（職）	氏　名
	主 査　教 授	小比賀　聡
	副 査　教 授	藤岡　弘道
	副 査　教 授	小林　資正

論文審査の結果の要旨

架橋型核酸2’,4’-BNA/LNAおよびその類縁体は、核酸医薬品の優れた素材として大いに期待されており、それら架橋型核酸の物性とその架橋環構造の相関関係を詳細に明らかにすることは非常に重要である。本研究は、六員環架橋型核酸をベースに新しい人工核酸の設計と開発を行い、同時にその架橋環構造と物性の相関について調べたものであり、その結果として、以下の興味深い知見が得られている。

1) 優れたRNA結合親和性と2’,4’-BNA/LNAをも凌ぐ高い酵素耐性能を併せ持つ六員環架橋型核酸を基軸とし、六員環アミド架橋型核酸、ジヒドロピラン架橋型核酸、4’位にアセタール構造を有する六員環架橋型核酸の合成を達成した。
2) 既存の各種架橋型人工核酸を含めて、架橋環の化学構造とその物性の相関を調べた結果、今後の新しい架橋型核酸を設計する上で、優れたRNA結合親和性や核酸分解酵素耐性能を付与するには、水素原子を含めたすべての架橋環を構成する原子の微細な空間的位置を考慮した上で、適切な化学修飾を選択することが非常に重要であることを示した。
3) 架橋環の化学構造と物性の相関について調べた中で、8’位にメチレン基をもつmethylene-EoDNA、*R*-Me-methylene-EoDNAおよび*S*-Me-methylene-EoDNA が、5-メチルウリジンから9工程で簡便に合成できるだけでなく、非常に高い相補鎖RNA結合親和性、並びに二重鎖DNA結合親和性と、六員環架橋型核酸の中でも極めて優れた核酸分解酵素耐性能を併せ持つことを見出した。

以上の研究成果は、アンチセンス核酸などの核酸医薬や、人工核酸を用いた様々なテクノロジーへと展開できる優れた物性を有する人工核酸の開発に貢献できるものであり、博士（薬科学）の学位論文として相応しいものであると判断した。