



Title	核酸医薬品創薬に向けたプラットフォーム技術 Dual Lock 法の開発
Author(s)	高田, 遼平
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55999
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

論文内容の要旨

氏名 (高田 遼平)

論文題名 核酸医薬品創薬に向けたプラットフォーム技術 Dual Lock 法の開発

論文内容の要旨

本論文は核酸医薬品創薬に対してプラットフォーム技術となりえる Dual Lock 法の開発についての研究をまとめたものであり、緒言、総括を含む 4 章から構成される。

緒言となる第 1 章では、本研究の背景と目的、及びその意義について記載した。

第 2 章では、poly(A) シグナルを含む 3' -UTR の末端周辺領域に設計した siRNA 及び、gapmer について、その翻訳抑制効果を検証した。その結果、ヒト *RelA* mRNA の 3' -UTR 末端領域の興味深い特徴を発見した。この領域にハイブリダイズするように siRNA を設計した場合、siRNA は mRNA の分解を伴わずに標的遺伝子の翻訳を抑制し、加えて、poly(A) 鎖の短小化を誘導していた。また、この領域に LNA gapmer を設計した場合、mRNA の分解を伴わずに標的の翻訳を阻害した。このことから、RNaseH が誘導する mRNA の分解は 3' -UTR 末端に設計した gapmer には必要ないことが示唆された。

第 3 章では 3' -UTR 末端に設計した LNA アンチセンスオリゴ (ASO) が翻訳抑制効果は低い、mRNA 量に影響を与えず、poly(A) 鎖の短小化を誘導したという miRNA との共通点に着目し、5' -末端 LNA ASO との組合せによる翻訳抑制効果を行った。それぞれの ASO を単独で使用するよりも、両端を標的とした二つの ASO を使用した場合、顕著に発現抑制効果が上がった。また、この章では *RelA* mRNA の 5' -末端、及び 3' -UTR 末端を標的とした二つの LNA ASO をポリエチレングリコールで連結したスペーサー型 ASO による翻訳抑制についても記した。スペーサー型 ASO を HeLa 細胞にトランスフェクションさせたところ、標的遺伝子の翻訳を抑制した。また、その際 mRNA 量に影響は与えず、poly(A) 鎖の短小化を引き起こしていた。mRNA は生体内では環状化しており翻訳反応を促進していることが知られている。スペーサー型 ASO は標的 mRNA の分子内あるいは、分子間でその両端をつまむことで環状化状態を不安定化し、翻訳を阻害していると考えられ、この方法を Dual Lock 法と名づけた。Dual Lock 法は設計が簡便であり、効果的に発現を抑制できることから核酸医薬品開発において「スクリーニングの省略」と「使用する核酸の低濃度化」に貢献できるとプラットフォーム技術となりえる。

第 4 章の総括では、これら得られた知見を総括し、今後の展望について記した。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (高 田 遼 平)			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	教授	渡邊 肇
	副 査	教授	福崎 英一郎
	副 査	教授	紀ノ岡 正博
論文審査の結果の要旨			
<p>本論文は核酸医薬品創薬に対してプラットフォーム技術となりえる Dual Lock 法の開発についての研究をまとめたものであり、得られた主な結果を要約すると以下の通りである。</p> <p>(1) ヒト <i>RelA</i> mRNA の 3' -UTR 末端領域に設計した siRNA は 標的 mRNA の分解を伴わずに標的遺伝子の翻訳を抑制し、加えて、poly(A) 鎖の短小化を誘導していることを明らかにした。</p> <p>(2) ヒト <i>RelA</i> mRNA の 3' -UTR 末端領域に設計した LNA gapmer は 標的 mRNA の分解を伴わずに標的の翻訳を阻害することを明らかにした。</p> <p>(3) 標的 mRNA の 5' -末端に設計した LNA antisense oligo (ASO) と 3' -UTR 末端に設計した LNA ASO を同時に作用させることで、二つの ASO が相乗的に翻訳抑制を行うことを明らかにした。</p> <p>(4) この二つの ASO をポリエチレングリコールで連結することで一分子化したスパーサー型 ASO が効率的に標的 mRNA の翻訳を抑制できることを明らかにし、この方法を Dual Lock 法と名づけた。</p> <p>以上のように、本論文は近年、次世代型の医薬品として盛んに研究が進められている核酸医薬品の創出において「設計が簡便」であり、「効果的に発現を抑制できる」Dual Lock 法によって重要な寄与をするものである。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。</p>			