



Title	Studies on Design, Syntheses, Complexation and Recognition Control Behavior of Novel Peptide Ribonucleic Acids with Various Backbone Structures
Author(s)	澤, 展也
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/57461
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について 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

氏 名	澤 展 也
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	第 2 3 7 7 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 22 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科応用化学専攻
学 位 論 文 名	Studies on Design, Syntheses, Complexation and Recognition Control Behavior of Novel Peptide Ribonucleic Acids with Various Backbone Structures (多様な主鎖骨格を有するペプチドリボ核酸の設計・合成とその錯形成ならびに認識制御に関する研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 井 上 佳 久 (副査) 教 授 三 浦 雅 博 教 授 茶 谷 直 人 教 授 明 石 満 教 授 馬 場 章 夫 教 授 神 戸 宣 明 教 授 関 修 平 教 授 真 嶋 哲 朗 教 授 安 蘇 芳 雄 教 授 芝 田 育 也

論 文 内 容 の 要 旨

最近、標的となる核酸と塩基配列特異的に安定な錯体を形成し、さらにその錯形成をホウ酸によって制御可能な核酸モデルとして、イソグルタミン酸を主鎖骨格にもつペプチドリボ核酸 (γ PRNA) が設計・合成された。本研究では、 γ PRNAを基本構造として多様な主鎖骨格を設計し、さらに、その種々のPRNAに関して、遺伝子治療法であるアンチセンス法へと応用可能な二重鎖形成のみならず、同じくアンチジーン法へと応用可能な三重鎖形成時の核酸認識能について検討し、PRNAの構造最適化における設計指針を見出した。

第1章では、主鎖骨格をイソグルタミン鎖から α -ペプチド骨格に変え主鎖の繰返し長を変化させた α PRNAオリゴマーを設計・合成し、 α PRNAの標的DNAへの錯形成能の大幅な変化から、主鎖の繰返し長の錯形成能への影響を明らかにした。さらに、ホウ酸存在下での α PRNAの錯形成能の消失から、その認識制御能を実証した。

第2章では、高水溶性の付与を目指して主鎖骨格へのエーテル結合を導入したoxaPRNAを新規に開発し、その特性を評価した。oxaPRNAオリゴマー12量体は標的DNAと錯形成しなかったが、両末端にArgを導入した同配列のオリゴマーは標的DNAと錯形成することを見出した。さらに、oxaPRNAにおけるホウ酸を外部因子とする標的核酸の認識制御機能も明らかとした。これらの結果から、高水溶性PRNAにおいて静電相互作用の利用が有効であることが明らかとなった。

第3章では、主鎖骨格にアンモニウム正電荷を導入しつつもさらに側鎖長を削減したazaPRNAを設計・合成し、PNAとのコンジュゲートを作成してその特性評価を行った。このコンジュゲートが、azaPRNA部位において、相補的DNAと安定な三重鎖を形成し、さらにミスマッチ感受性を有することを、核酸認識実験から明らかとすることができた。これらの結果から、側鎖の自由度ならびに正電荷が錯形成において重要な役割を演じることを実証した。

第4章では各種PRNAの特性を詳細に比較検討するために、12量体PNAオリゴマーの中央部の残基をPRNA分子

で置換した種々のコンジュゲートを合成し、相補的DNAとの間での錯安定性を検討した。その結果、PRNA構造の錯安定性におよぼす影響が二重鎖錯体と三重鎖錯体で大きく異なることを見出した。三重鎖錯体では、側鎖の短いazaPRNAユニットが安定錯体を与えることを明らかとし、対照的に二重鎖錯体の場合は、側鎖が長い α PRNAユニットが最大の錯安定性を与えることを明らかとした。さらにその錯安定性とホウ酸存在下での錯安定性の低下との相関が観測されたことにより、より強くDNAを認識するPRNA分子が、より優れた核酸認識制御機能を有することを明らかにした。

以上、本研究では特徴的な構造を有するPRNAの特性を初めて系統的に検証し、PRNAのアンチセンスならびにアンチジーンへの適性を明らかとした。本研究において開発し、その認識・会合挙動を明らかとした各種の新規PRNAは、その刺激応答性を生かし、今後ガン細胞特異的遺伝子治療薬としての発展が期待される。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、核酸認識制御機能を有するペプチドリボ核酸 (PRNA) を基本構造とする多様な主鎖骨格をもつ新規誘導体を設計・合成し、遺伝子治療法であるアンチセンス法へ適用可能な二重鎖形成のみならず、アンチジーン法へも展開できる三重鎖形成時の核酸認識特性について明らかにしたものである。以下に得られた成果の要約を示す。

本論文は、序章、本論 4 章、ならびに総括から構成される。

第 1 章では、主鎖骨格をイソグルタミン鎖から α -ペプチド鎖に変え、主鎖の繰返し長を変化させた α -PRNA オリゴマーを設計・合成し、それらと DNA との錯形成挙動を検討し、主鎖の繰返し長を DNA と一致させることにより、錯形成能が大きく向上することを明らかにしている。さらにホウ酸存在下での錯形成能消失から PRNA の認識制御能を実証している。

第 2 章では、より高い水溶性の付与を目指し、主鎖骨格にエーテル結合を導入した oxa-PRNA を新規に設計・合成し、その特性について検討している。oxa-PRNA モノマーの合成法を開発し、これを用いた固相法により合成したオリゴマー12 量体は標的 DNA と錯形成しないが、両末端に Arg を導入した同配列のオリゴマーは相補的 DNA と安定な錯体を形成することを見出している。さらにホウ酸を外部因子とする標的核酸の認識制御も達成している。これにより、水溶性 PRNA において、静電相互作用が標的核酸との錯形成ならびにその認識制御において有効であることを明らかにしている。

第 3 章では、主鎖骨格にアンモニウム正電荷を導入し、さらに側鎖長を短くした aza-PRNA を設計・合成し、PNA とのコンジュゲートを作成してその特性を評価している。このコンジュゲートは、相補的 DNA と安定な三重鎖を形成し、さらにミスマッチ感受性を有することから aza-PRNA 部分が塩基認識していることを示し、側鎖の自由度ならびに正電荷が錯形成において重要な役割を演じることを明らかにしている。

第 4 章では、PRNA の特性についてより詳細に解析するために、PNA オリゴマー中央部を種々の PRNA 分子で置換したコンジュゲートを合成し、相補的 DNA との錯安定性を検討している。その結果、PRNA 構造の錯安定性に及ぼす影響は、二重鎖錯体と三重鎖錯体で大きく異なることを見出している。三重鎖錯体では側鎖の短い aza-PRNA ユニットが安定錯体を与えるのに対し、二重鎖錯体の場合は側鎖が長い α -PRNA ユニットが、最大の錯安定性を与えることを明らかにしている。さらに、その錯安定性とホウ酸存在下での錯安定性の低下との相関が観測されたことより、より強く DNA を認識する PRNA 分子が、より優れた核酸認識制御機能を有することを明らかにしている。

以上のように、本論文は特徴的な構造を有する一連の新規 PRNA 誘導体の DNA との錯形成能ならびに外部因子による認識制御能について初めて系統的に検証したものであり、得られた結果はいずれも新規かつ有意義なもので、今後刺激応答性遺伝子治療薬を開発するための有用な指針となるものである。よって本論文は、博士論文として価値あるものと認める。