

リジン反応性ケージド人工核酸の開発と標的生体分子の部位特異的修飾への応用

楊, 波

<https://hdl.handle.net/2324/1543945>

出版情報：九州大学, 2015, 博士（創薬科学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

(様式 9-3)

氏名	楊 波
論文名	リジン反応性ケージド人工核酸の開発と標的生体分子の部位特異的修飾への応用
論文調査委員	主査 九州大学大学院 薬学府 教授 末宗 洋 副査 九州大学大学院 薬学府 教授 佐々木茂貴 副査 九州大学大学院 薬学府 教授 王子田彰夫 副査 九州大学大学院 薬学府 准教授 麻生真理子

論文審査の結果の要旨

本論文では、リジンに対し選択的反応性を有するケージド人工核酸開発の基礎研究から出発し、最終的に反応性核酸による DnaA 蛋白質のリジン基部位特異的修飾反応へと応用展開している。これらを通じて、新たな蛋白質修飾の方法論開発について論じている。

第二章では、ジカルボニル基を持つケージド人工核酸を基質とし、相補鎖およびアミノヘキシル基を持つ ODN との反応を精査した。非還元条件下では、ジカルボニル基を持つ場合、期待したラクタム修飾 ODN が 63% 収率で得られた。一方、モノカルボニル基を持つ人工核酸では ODN 分解物は確認できたが、クロスリンク体は確認できなかった。還元条件下ではいずれの場合も 71-73% 収率でクロスリンク体を与えたが、反応速度は前者が約 10 倍速いことが判明した。

第三章では、3'-位 DNA の β -脱離を阻害することを期待して 2'-メトキシ置換基を導入し、その効果について精査している。結果、2'-メトキシ-1',4'-ジカルボニル-ケージド人工核酸はアミノヘキシル基を持つ ODN との反応においてクロスリンク体を極めて高収率 (93%) で与えている。この高い反応性は二つのカルボニル基の共同効果および 2'-メトキシ基の働きによるものであり、単独カルボニル基では見られない結果である。さらに、細胞膜透過シグナルペプチドとの還元的アミノ化によるコンジュゲート形成についても明らかにし、本法の有用性を示している。

第四章では、アミンとの反応性向上を企図して、2'-ジフルオロ置換基を導入し、その効果について精査している。まず、D-mannitol を出発原料とし、2'-ジフルオロリボース誘導体を合成、さらに ODN に組み込み反応性評価へと進んだ。アミノヘキシル基を持つ ODN との反応において、2種のクロスリンク体を与え、その生成率は合計で 98% という特筆すべき結果を与えている。またクロスリンク体生成機構についても適切に議論している。

第五章では、反応性核酸による DnaA 蛋白質のリジン基部位特異的修飾反応について論じている。DNA 鎖のリン酸部に接近するリジン残基を持つ DNA 結合性蛋白質として大腸菌複製開始蛋白質 DnaA を選び、蛋白質のリジン部位特異的修飾反応を試みた。その結果、DnaA の DNA 結合配列に OAS を含む ODN は DnaA との反応において、高収率で修飾成績体を与えた。また還元条件下では核酸-蛋白質コンジュゲートを高収率で与えた。より詳細な反応解析を行うため、DnaA の DNA 結合部位である Domain IV との反応を行ったところ、還元的条件下での定量的なコンジュゲート形成が明らかになった。得られたコンジュゲートの構造についても論じている。

以上、本論文は、リジンに対し選択的反応性を有するケージド人工核酸開発の基礎研究から出発し、最終的に反応性核酸による DnaA 蛋白質のリジン基部位特異的修飾反応へと展開している。蛋白質機能制御へと通じるこれら新規蛋白質修飾法開発に関連して、極めて興味深い知見を明らかにしている。これらの研究成果は高く評価でき、博士 (創薬科学) の学位に値すると判定した。