

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 SHU Zhaoma

論 文 題 目 Development of Membrane Permeable  
Oligonucleotides(膜透過性核酸の開発)

### 論文審査担当者

主 査 名古屋大学大学院理学研究科 教授 博士(薬学) 阿部洋

委 員 名古屋大学大学院理学研究科 教授 博士(工学) 荘司長三

委 員 名古屋大学大学院創薬科学研究科 准教授 博士(薬学) 兒玉哲也

## 論文審査の結果の要旨

アンチセンス法や RNA 干渉法に代表される核酸医薬は有用な治療薬である。しかしながら、オリゴ核酸は細胞膜透過性が低く生体内投与において問題がある。本論文は、ジスルフィド構造を用いた新規オリゴ核酸の送達法の開発研究についてまとめたものであり、序論、本論三章により構成されている。

第一章では、核酸化学合成のメジャーな手法であるホスホロアミダイト法で、新規合成した環状と直鎖状のジスルフィドユニットをオリゴ配列に導入し、それら修飾オリゴ核酸の物性・活性評価を行った。この修飾オリゴ核酸は、培養細胞への投与 10 分後には、細胞質に到達した。ジスルフィド修飾オリゴ核酸のこの急速な細胞質内分布は、エンドサイトーシス非依存的な取り込み経路の存在を示唆している。種々のメカニズム解析実験により、修飾オリゴ核酸は細胞表面のチオール基とのジスルフィド交換反応により細胞質に取り込まれることが明らかになった。このアプローチは、既存のオリゴ核酸細胞デリバリー法の問題を解決する有効な手法となることが期待される。

第二章では、ジスルフィド結合でマスクされたアミノユニットで構成されるプロアミノユニットに基づくオリゴ核酸の新しい送達法を開発した。ジスルフィドユニットを用いてカチオン性アミノ基をマスクし、プロアミノ基を持つ新規のホスホロアミダイト体を設計・合成した。このプロアミノユニットを導入したオリゴ核酸は、膜透過性の向上、効率的な細胞質内分布、および最小限の細胞毒性を示した。また、この送達機構は細胞膜上のチオール基とジスルフィド基との交換反応に基づくことも証明した。さらに、動物動態実験でプロアミノ修飾は、オリゴ核酸の遺伝子サイレンシング効果に影響せず、肝臓へのオリゴ核酸の送達を促進した。前章の研究では、細胞膜上のチオール基とジスルフィド基との交換反応という送達機構において、ジスルフィド部分の反応性が送達効率を決定することが示唆された。そこで第三章では、送達効率を更に向上させるために、ジスルフィド部分の構造誘導化を検討した。また修飾オリゴ核酸の物性向上を目指し、オリゴ核酸のリン酸部位の骨格構造の検討も行った。環状ジスルフィドユニットを五員環構造に置き換えることで、ジスルフィドユニット一つで膜透過性の向上を実現した。また、リン酸部位をホスホジエステル骨格に置き換えることにより、修飾オリゴ核酸の親水性が向上し取り扱いが容易になると共に、高収率での分子合成が可能となった。

以上の理由により、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。