

審査の結果の要旨

氏名 石窪 章

RNA は遺伝子の伝達、アミノ酸の運搬、リボソームの構成要素、RNA 自身の切断・結合などを触媒する酵素(リボザイム)、更には近年注目を集めている遺伝子発現抑制役(RNA 干渉)といった多様な役割を担っている。この RNA を、位置選択的に加水分解できる人工リボヌクレアーゼによって RNA を目的通り操作した後に細胞内に導入すること、あるいはその人工リボヌクレアーゼを細胞導入して mRNA の選択的な破壊を行なうことによって遺伝子発現を自在に制御することができれば、遺伝子治療、遺伝子工学の発展に大いに役立つものである。本論文ではこれを実現するための大きな技術的ポイントとなる人工ヌクレアーゼの構築、および核酸の細胞導入法について述べている。本論文は以下の 5 章からなる。

第 1 章は序論であり、天然酵素や人工触媒による RNA の加水分解や核酸の細胞導入方法などの背景について紹介している。これらを元に、人工リボヌクレアーゼの設計としてアンチセンス鎖に活性中心を結合するという戦略のもと、効果的な活性中心となる金属錯体を構築すること、効果的な細胞導入に向けて、核酸を固体表面にブラシ状に固定してベクターと相互作用させるという新たな複合体調製法を検討することといった研究ターゲットの明確化を行ない、研究の目的と意義について述べている。

第 2 章では、RNA 加水分解活性の高いランタニド金属イオンを核酸加水分解の活性種として活用することを目的に、種々の配位子を用いて中性水溶液中での錯形成挙動およびその核酸加水分解活性を検討した結果と考察について述べている。配位子は、ランタニド金属イオンの正電荷を損なわない中性であるものが好ましいという仮説の下、これまでにランタニド金属イオンと錯形成が確認されているシクロデキストリンや窒素原子で配位する配位子を検討している。その結果、ピリジン環の窒素が、強くランタニド金属イオンに配位することを明らかにし、4つのピリジン窒素を配位部位として活用した配位子を用いることにより、水溶液中で安定で、かつ RNA 加水分解活性を有した錯体を創出することに成功している。さらに、2 個の金属イオンを保持できる配位子を利用したランタニド金属イオンの複核錯体では、中性水溶液中での安定性は低いものの RNA 加水分解活性が La^{3+} イオンの約 70 倍も向上することを見出している。

第 3 章では、生体必須微量金属元素であり、そのもの自身では種々の反応にイナートで

ある Zn^{2+} イオンの 2 核、3 核錯体を作成し、その RNA 加水分解反応の活性について調べた結果およびその反応機構の動力的考察について述べられている。ピリジン環を配位座として用いた配位子を設計・合成し、 Zn^{2+} イオンを用いた種々の 2 核、3 核錯体を検討した結果、3 種類の亜鉛 2 核錯体および 1 種類の亜鉛 3 核錯体を中性水溶液中で安定に形成させることに成功し、これらが亜鉛イオン単独に比べて非常に優れた RNA 加水分解活性を有していることを見出している。溶液中での錯体の構造、RNA の加水分解反応と塩基選択性、反応速度論的考察を行うことによって、それぞれの錯体の RNA 加水分解機構について詳細に検討を行い、錯体の多核化、および錯体中の金属イオンの構造・配位水の状態が RNA 加水分解活性に影響を及ぼすことを示している。

第 4 章では、効率的なトランスフェクションのために、核酸と非ウイルス性のカチオン性ベクターの複合体の新たな形成方法の開発について述べられている。その新たな手法とは、高分子電解質（核酸）ブラシと反対電荷を持つカチオン性ベクターを相互作用させるという方法である。その結果、表面上に高密度に高分子を固定させた薄膜状態の高分子ブラシは、カチオン性両親媒性物質との相互作用によって効率的に凝縮させることが出来ること、さらに高分子電解質の濃縮率はバルクカチオン性両親媒性物質濃度、イオン強度によって制御可能であることを示しており、このシステムが、トランスフェクション用複合体調製法として有望であると結論付けている。

第 5 章は、本論文の結論であり、本研究を通して得られて知見および新たな遺伝子治療や遺伝子工学のための遺伝子発現抑制方法の開発指針について述べられている。

以上のように、本論文は、RNA 切断触媒の開発とその細胞導入に向けての検討に関する研究について述べられたものであり、今後の遺伝子発現抑制方法などを通じた遺伝子治療・工学に大きく貢献するものである。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。