

論文審査の結果の要旨

氏名 岩田 倫太郎

本論文は、RNA 二重鎖への結合能を有する二種類の新規なオリゴジアミノ糖の合成法、及び RNA 二重鎖との相互作用解析について述べたものであり、序論及び四章からなる本論より構成されている。

序論では、RNA 干渉の機構及びこれを医薬へ応用した RNAi 医薬の特徴について概観し、実用化にあたっての現状の課題点を明確にしている。さらに、これらの課題を克服するために行われている先行研究について概観した上で、本研究の合成標的である RNA 二重鎖特異的に結合する分子の重要性について説明している。RNA 二重鎖結合性分子としてオリゴジアミノグルコースを考案し、分子の特徴、これを用いた RNAi 医薬キャリア分子への適用可能性、及びこれらの分子の合成戦略を論じ、本研究の目的、意義、位置づけを述べている。

第一章では、オリゴジアミノグルコースの合成について検討した結果について述べている。まず、適切に保護基を導入したグリコシルドナー、グリコシルアクセプターをそれぞれ合成し、グリコシル化反応を試みた結果、最高で $\alpha:\beta=86:14$ という立体選択性を達成した。また、6位にフタルイミド基を有するグリコシルドナーを用いることで、グリコシル化反応生成物の両立体異性体を容易に分離することが可能であることを明らかにしている。これにより、オリゴジアミノグルコースの保護体の2~4量体を中程度の収率で単離することに成功している。続いて、各保護基、官能基の適切な脱保護反応、還元反応の条件について検討を行い、目的化合物であるオリゴジアミノグルコースの1~4量体の合成を達成したことについて述べている。

第二章では、第一章で合成したオリゴジアミノグルコースと、RNA 二重鎖及び比較対象として DNA 二重鎖との相互作用の評価を行っている。CD スペクトルにおいては、オリゴジアミノグルコースが、RNA 二重鎖の構造変化を誘起することを、温度可変 UV による融解温度解析では、オリゴジアミノグルコースを加えることで RNA 二重鎖の熱力学的安定性が向上することを示している。一方で、DNA 二重鎖を用いた実験では、CD スペクトル、融解温度のいずれについても、オリゴジアミノグルコースを加えることによる有意な変化は観測されなかった。等温滴定カロリーメトリーによる実験結果では、オリゴジアミノグルコースを RNA 二重鎖へ加えることで発生する熱量が、DNA 二重鎖の場合の2倍以上であった。以上の結果より、オリゴジアミノグルコースが RNA 二重鎖に対し、特異的に相互作用することを明らかにした。これらの結果は、オリゴジアミノグルコースが核酸二重鎖のメジャーグループ幅を認識して結合する可能性を示唆するものである。また、等温滴定カロリーメトリーにおいて、オリゴジアミノグルコース四量体の、十二量体 RNA に対する結合比 $N = 0.73$ と、メジャーグループに結合すると仮定した場合と矛盾のない実験値を得ている。

第三章では、RNA 二重鎖結合性のオリゴジアミノ糖とビタミン E を組み合わせた RNA 医薬の新規キャリア分子の合成について述べている。前章までで述べた、オリゴジアミ

ノグルコース誘導体と比較して、合成が簡便で、かつ RNA 二重鎖結合性を有する分子として、オリゴジアミノガラクトースを新たに考案した上で、オリゴジアミノガラクトース-ビタミン E 連結分子の設計、合成戦略について詳細に述べている。グリコシルドナー 2 位の保護基として隣接基関与を利用した β 選択的グリコシル化反応を行うため、フタルイミド基を導入し、それ以外の保護基はオリゴジアミノグルコースと同様のものを用いた。しかしながら、3 位水酸基に導入したベンジル基が、種々の条件で除去困難である、という、オリゴジアミノグルコース誘導体の合成では起こらなかった問題により、最終目的化合物への誘導が困難であった。この問題を解決する手法として、グリコシルドナー 3 位水酸基の保護基をベンジル基から *p*-メトキシベンジル基へ、4 位水酸基の保護基をアセチル基からクロロアセチル基へ変更した。*p*-メトキシベンジル基は、オリゴマー合成後、良好な収率で除去する条件を見出し、続いてビタミン E 及びビタミン E アナログとの連結反応、保護基の除去反応を行うことで、ビタミン E やビタミン E アナログが連結したオリゴジアミノガラクトース三量体を合成することに成功した。続いて、このように合成したオリゴジアミノガラクトース誘導体が、オリゴジアミノグルコースと同様の RNA 二重鎖との相互作用を示すかについて調べるために、融解温度解析を行ったところ、ビタミン E アナログが連結したオリゴジアミノガラクトース三量体が、オリゴジアミノグルコースでの実験結果に類似した RNA 二重鎖の融解温度の上昇、CD スペクトルの変化を引き起こすことを見出した。

以上のように、RNA 二重鎖への結合能を有する二種類のオリゴジアミノ糖、オリゴジアミノグルコースとオリゴジアミノガラクトース誘導体を設計し、これらの合成にあたってそれぞれ単糖ユニットであるグリコシルドナー、グリコシルアクセプターの合成、グリコシル化反応による糖鎖伸長、及び脱保護反応といった一連の合成法を確立した。また、オリゴジアミノガラクトースについては、Huisegen 反応を用いることで合成全工程の最終盤でビタミン E やそのアナログと連結する系を確立した。さらに、これらのオリゴジアミノガラクトースが、実際に RNA 二重鎖に結合し、特異的に相互作用することを種々の実験によって明らかにした。

これらの成果は、有機合成化学、糖質化学、核酸化学、医学、薬学などの諸分野に大きく寄与することが期待される。

よって本論文は、博士（生命科学）の学位請求論文として合格と認められる。