

氏 名		小畠 健太郎 コバタ ケンタロウ
学位(専攻分野)		博 士 (工 学)
学 位 記 番 号		博 1 1 8 5 号
学 位 授 与 の 日 付		令和 7 年 3 月 21 日
学 位 授 与 の 要 件		学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 ・ 専 攻		工芸科学研究科 物質・材料化学専攻
学 位 论 文 題 目		Photo-cross-linking oligonucleotides for nucleic acid therapeutics (核酸医薬への応用を志向した光架橋性核酸の開発)
審 査 委 員		(主査)教授 小堀 哲生 教授 黒田 浩一 准教授 金折 賢二

論文内容の要旨

本論文は、序論および 3 つの章から構成される。

序論では、これまでに開発してきた核酸医薬品の代表例であるアンチセンス核酸、siRNA、アプタマーの作用機序がまとめられている。また、3 種類の核酸医薬品が高い活性を示すために導入された化学修飾について概説されている。とくに標的核酸との二重鎖形性能の向上、ならびに核酸医薬品の配列選択性の確保に共有結合形成性残基（架橋部位）の導入が有望であることが述べられている。

第 1 章では、糖環 2' 位に光応答性架橋部位を導入したアンチセンス核酸の開発について述べられている。アンチセンス核酸が標的核酸と二重鎖を形成した際に糖環 2' 水酸基は副溝に位置するため反応性残基の導入位置として適していると考えられる。そこで申請者は 2'-デオキシ-2'-アミノヌクレオシドが導入されたアンチセンス核酸前駆体を開発し、2' 位にアミド結合を介して様々な光応答性残基が導入されたアンチセンス核酸の相補鎖との架橋特性を評価した。その結果、2' 位にアジドフェニル誘導体が導入されたアンチセンス核酸が非常に高い架橋効率を示すことを明らかとした。

第 2 章では、点変異 RNA と選択的に共有結合を形成する光架橋性アンチセンス核酸の開発について述べられている。これまでのアンチセンス核酸は、RNA 中に導入された点変異を識別することが難しく、非標的配列との相互作用に由来するオフターゲット効果を抑制することが困難であった。本論文では、プロパルギルアミノ基を 5 位にもつウリジン誘導体に光応答性残基を導入することにより、RNA に導入された点変異を共有結合形成反応により識別可能であることを明らかとしている。またウリジン誘導体の 2'-3' 結合を開裂した非環状リボースを導入することにより共有結合形成反応の効率を著しく向上可能であることを明らかにしている。

第 3 章では、テロメラーゼの錆型 RNA と相補的なオリゴ核酸に共有結合形成部位を導入したテロメラーゼ阻害剤の開発について述べられている。光反応性部位には、光応答性 α -クロロアルデヒド (PCA) 部位を選択している。PCA 部位を導入したオリゴ核酸を合成し、テロメラーゼ活性の阻害効率を TRAP assay によって解析した結果、紫外線照射依存的に、テロメラーゼ活性を大幅に低

下させることに成功している。また PCA 部位の導入位置を検討した結果、オリゴ核酸の 5'末端への導入がテロメラーゼの阻害に効果的であることを見出している。

論文審査の結果の要旨

作用機序に共有結合形成反応をもつ医薬品は、非常に高い競合阻害活性を示す一方、共有結合形成反応に伴う重篤な副作用を生じやすいという欠点がある。申請者は本論文において、一般に標的選択性が高いとされている核酸医薬品に共有結合形成部位を導入することで、標的識別性と競合阻害活性が両立する新しい核酸医薬品プラットフォームの構築を目指した研究を展開している。第 1 章では糖環 2'位に光架橋性部位を導入したアンチセンス核酸を開発し、自身の打ち出したコンセプトが核酸医薬品の活性向上に有用であることを実証している。第 2 章では新たな試みとして、一塩基変異(点変異)RNA の選択的識別に共有結合形成型の核酸医薬品が応用可能であることを見出している。これまで遺伝子配列中に導入された点変異を選択的に識別し、その活性を制御する方法はほとんど報告されていない。また、近年の遺伝子解析技術の急速な進歩に伴って、様々な遺伝子点変異と疾患の関連性が続々と明らかになってきているため、申請者の開発した点変異 RNA 選択的共有結合形成反応は、今後の核酸医薬品の適応範囲の拡大に大いに貢献すると評価できる。第 3 章は、テロメラーゼ阻害剤の開発に関する報告である。標的としているテロメラーゼは、がん細胞特異的に発現していることから抗がん剤の標的として、非常に有望視されている RNA-タンパク質複合体である。申請者は、共有結合形成型核酸医薬品が天然型 DNA と比較して 700 倍以上の活性を持つことを明らかとすることで、自身のコンセプトが相補 RNA だけではなく、RNA-タンパク質複合体にも展開可能であることを示している。第 1~3 章で報告されている研究成果は、審査を経て掲載された下記 3 編の学術論文（うち 2 編は申請者が筆頭著者である）に掲載されている。

以上の結果より申請者は、新規核酸医薬品に関わる研究コンセプトの構築、研究成果の取得・報告の一連のプロセスを完璧に遂行する実力をもつと判断できる。

- 1 . Kazuya Matsuo, Machiko Kitamura, Kentaro Kobata, Daiki Unita, Tomonori Waku, Akio Kobori.
“Photo-cross-linking reactions in RNA–DNA heteroduplexes using photoreactive DNA incorporated with diazirine and aryl azide warheads”
Chem. Lett. 53, upae152, (2024).
<https://doi.org/10.1093/chemle/upae152>
- 2 . Kentaro Kobata, Daiki Unita, Kazuya Matsuo, Tomonori Waku, and Akio Kobori.
“Point Mutation Selective Photo-Cross-Linking Reactions by Diazirine-Derivatized ODNs”
J. Org. Chem. 90, 5093-5099 (2025).
<https://doi.org/10.1021/acs.joc.4c02493>
- 3 . Kentaro Kobata, Kazuki Matsubara, Risa Nishikawa, Yuki Narita, Kazuya Matsuo, Tomonori Waku, Akio Kobori.
“Oligonucleotide-based telomerase inhibitors with a photoresponsive α -chloroaldehyde”
Bioorg. Med. Chem. Lett. 120, 130138 (2025).
<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2025.130138>