

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 カルンソムワン ウィランパット

カルンソムワン ウィランパット氏提出の論文「**Caging Technology for Delivery of Oligonucleotides into Cells** (細胞へのオリゴヌクレオチド送達のためのケーシング技術)」は、4章から構成されており、細胞内への核酸の送達法を対象とし、ケーシング技術による特定の核酸への脂肪酸の修飾方法の開発と高効率な核酸細胞導入を可能にする不飽和脂肪酸の発見とそのメカニズムについて論じたものである。

第1章では、本論文の背景と概要について論述している。背景については2セクションに大きく分けられており、前半では、外部から細胞内へ核酸を送達する方法についてのこれまでの研究を概述している。後半は、これまでに知られている修飾核酸とそれらに対するケーシング技術について解説している。最後に本論文の構成について述べている。

第2章では、不飽和脂肪酸で修飾された核酸の合成と細胞導入効率について述べている。細胞内への核酸の送達は核酸医薬の開発において核心の問題になっている。細胞内への核酸の効率的な送達を達成するためには、まさに核酸自体の乏しいバイオアベイラビリティおよび細胞浸透性が克服されなければならない。この問題を解決するために、バイオアベイラビリティおよび細胞浸透性を高める化学ユニットを核酸に対して装着することが必要である。カルンソムワン氏は、不飽和脂肪酸とオリゴヌクレオチドとの直接的な結合を介した脱ケーシング可能な DNA 修飾を開発した。種々の不飽和脂肪酸ヨードメチルエステルを用いることにより、無修飾のポリ T DNA に対して不飽和脂肪酸を結合することができた。これらのうち、リノレン酸メチル修飾ポリ T DNA が HeLa 細胞に対して最良の細胞取り込みを有することが示された。この細胞取り込みは、リノレン酸メチル修飾ポリ T DNA によって形成されるミセルのサイズを測定することによりクラスリン依存性エンドサイトーシスであると推測された。さらに、このリノレン酸メチル修飾ポリ T DNA は、エステラーゼによって容易に分解して、元の無修飾のポリ T DNA へ戻ることも確認された。カルンソムワン氏の研究結果は、細胞内への核酸の送達をリノレン酸メチル修飾が容易にす

ることを示しており、核酸医薬研究において極めて価値が高いと言える。

第3章では、4-ニトロベンジル修飾核酸の開発について述べている。核酸の細胞内送達には、アンチセンス核酸、miRNA および siRNA などの核酸治療薬にとって不可欠である。合成化学ユニットによる核酸の保護および脱保護の方法論は、核酸の効果的な送達のための有望な戦略になる。カルンソムワン氏は、4-ニトロベンジル還元活性化保護基を有する核酸プロドラッグを合成する方法を確立した。まず、アゾ化した 4-ニトロベンジルユニットが核酸の修飾を効率化することを見だし、さらに、もう一段階の修飾を可能にするアルキンを連結した 4-ニトロベンジルユニットもまた核酸へ導入することに成功した。加えて、細胞導入を容易にするリノレン酸エステルを、アルキン修飾に対する銅触媒アルキン-アジド付加環化反応を用いて核酸に連結する方法も構築した。以上のように、カルンソムワン氏は、細胞導入を容易にする新たな核酸プロドラッグの製造法を確立した。

第4章では、本論文で示した細胞への核酸送達のためのケーシング技術の特徴と有用性を示し、今後の展望を述べている。本研究では、新たに創出した核酸の化学修飾が、従来手法をはるかに超える効率で核酸の細胞導入を可能にしている。また、将来展望として、これらの化学修飾核酸による細胞送達と核酸医薬への応用についての可能性についての議論をしている。

以上、本論文で研究された核酸修飾技術は、近年バイオ医薬品創薬分野で重要になっている核酸医薬の標的送達に大きく寄与する。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。