

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 17 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14976

研究課題名(和文) 生体内ポリアミン誘導体を標的とするRNAプタマーの取得とその応用

研究課題名(英文) Investigation of RNA aptamer for polyamine and its application

研究代表者

有澤 光弘 (ARISAWA, Mitsuhiro)

大阪大学・薬学研究科・准教授

研究者番号：40312962

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：RNAアプタマーは有用な創薬ツールであるが、低分子化合物のRNAアプタマー取得は挑戦的課題である。この課題に対し「低分子化合物の三次元構造を変えない新しい結合方法(エーテルライゲーション法・申請者オリジナル)」と「計算科学を用いた低分子化合物と樹脂の結合した化合物設計」を研究軸に、研究計画に即した実験を展開した結果、およそ目的の研究成果を得ることが出来た。すなわち、エーテルライゲーション法では、担持する樹脂の官能基、ローディング数、粒子系が重要であることが分かった。また、分子力学計算により設計した、ジアセチルスペルミジン及びハイプシンの樹脂への担持も順調に進んだ。

研究成果の概要(英文)：RNA aptamer is a useful method for drug discovery and RNA aptamer for small molecular compound is a challenging research topic now. To overcome this problem, we performed this research based on "development of novel ether bond formation" and "computational design of conformationally equivalent small molecular compound binding on solid supports". As the results, we obtained some expected results. In binding study between small molecular and solid support, it is important to think about functional group, loading amount and size of solid support. In computational study, we succeeded to obtain conformationally equivalent small molecular compound binding on solid supports and we will accomplish their synthesis soon.

研究分野：創薬化学

キーワード：薬学 有機化学 核酸

1. 研究開始当初の背景

生体内生理活性物質ポリアミン(プトレスシン、スペルミジン、スペルミン、ハイプシン)は細胞増殖因子として細胞機能に大変重要である。特にRNAとの相互作用を通じて翻訳制御に関わることから、ポリアミンが標的とする生体分子の同定を目指して世界中で競争的な研究が展開されている。例えば、ハイプシン (Hypusine) は真核生物翻訳開始因子5A(eIF5A)に含まれており、タンパク質合成の最初のペプチド結合の形成を促進する。ハイプシン残基の周辺の領域は保存性が高く、eIF-5Aの機能に必須である。そのため、ハイプシンとeIF-5Aは真核細胞の生存と増殖に不可欠であると考えられている。

一方、RNA アプタマーはタンパク質などの標的分子に対して抗体の様な高い親和性と高い特異性を有する RNA 分子で、化学合成で大量合成が可能で改良も容易であるといった抗体にはない特徴を持っている。そのため医薬品や工業への応用が期待され、実用化に向けた研究が精力的に行われている。しかし、ポリアミン誘導体を始めとする生体内生理活性物質(低分子)を標的とする RNA アプタマーの取得については、ほとんど報告されてない。これは、低分子化合物の RNA アプタマー取得が高分子化合物のアプタマー取得よりも困難であるからと考えられている。

RNA アプタマーの特徴

- RNAが“かたち”をつくり標的の構造を認識して結合
- 免疫排除が生じない
- 化学合成で容易に作製可能
- 修飾や改変が容易
- 大きな選択母集団の準備が可能 (10¹⁴~10¹⁵; フェージディスプレイで10⁹~10¹¹)
- 抗体が機能しない温度、溶液条件でも機能する
- 機能のON/OFFの調整が容易
- 標的の構造の微細な差異を認識できる

RNA アプタマーの応用

- 研究用試薬
- 体外薬 (診断等)
- 体内薬

2. 研究の目的

本研究では、標的低分子化合物の最安定三次元構造を変える事無く、樹脂上に担持することを目的としており、申請者らが現在取り組んでいる新しいエーテルライゲーション法を樹脂等の固相上で完成させ、

生体内低分子化合物の RNA アプタマー取得する新しい方法を開発する。

3. 研究の方法

A、生体内生理活性物質の三次元構造をほとんど変える事無く樹脂上に担持する新しい結合方法(エーテルライゲーション法)を開発する。

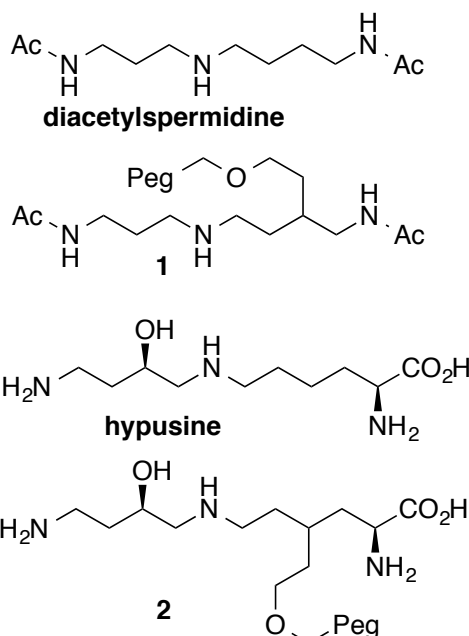
B、「1」の方法を用いてがんマーカとなりうるジアセチルスペルミジン及びハイプシンを樹脂上に担持する。

4. 研究成果

A、生体内生理活性物質の三次元構造をほとんど変える事無く樹脂上に担持する新しい結合方法(エーテルライゲーション法)を開発する。

種々検討した結果、液相上では、生体内生理活性物質と別の機能性化合物をエーテル結合でつなぐ反応条件を見出すことに成功した。続いて、この条件を固体上にも適応しようとしたが、固体上での反応性が著しく低かった。現在、反応条件の最適化を検討中である。これまでに、樹脂の官能基、ローディング量、粒子系が重要であることが分かっている。なお、目的の化合物が担持されていることを確認するため、大阪大学産業科学研究所の固体NMRを用いた。

B、「1」の方法を用いてがんマーカとなりうるジアセチルスペルミジン及びハイプシンを樹脂上に担持する。



計算化学を用いて、ジアセチルスペルミジン及びハイプシンと樹脂との結合部位を探索し、合成的化合物(1, 2)を設計した。また、樹脂上に担持するジアセチルスペルミジン誘導体(1)及びハイプシンの誘導体(2a)の合成について検討した結果、何れの化合物もあと数工程で合成できる段階に

到達した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

- Kohei Yamashita, Yuki Fujii, Shohei Yoshioka, Hiroshi Aoyama, Hirofumi Tsujino, Tadayuki Uno, Hiromichi Fujioka, and Mitsuhiro Arisawa; Development of Enyne Metathesis/Isomerization/Diels-Alder One-pot Reaction for Novel Near-Infrared (NIR) Dye Core. *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 3028-3031. (DOI: 10.1002/chem.201502313)

[学会発表] (計 11 件)

- Yuki Fujii, Hiromichi Fujioka, Satoshi Shuto, and Mitsuhiro Arisawa; Development of One-pot Ring-closing(RCM)/1,3-Dipolar Reaction Using Ruthenium Carbene Catalysts and Its Application to the Synthesis of Novel Polycyclic Heterocycles, 21st International Symposium on Olefin Metathesis and Related Chemistry (ISOM XXI)、グラーツ (オーストラリア)、2015 年 7 月 13 日
- Kohei Yamashita, Hiroshi Aoyama, Hiromichi Fujioka, and Mitsuhiro Arisawa; Development of enyne metathesis/isomerization/Diels-Alder one-pot reaction for novel NIR dye, 21st International Symposium on Olefin Metathesis and Related Chemistry (ISOM XXI)、グラーツ (オーストラリア)、2015 年 7 月 13 日
- Kohei Yamashita, Hiroshi Aoyama, Hiromichi Fujioka, and Mitsuhiro Arisawa; 1,6-Cycloisomerization to give 2,3-disubstituted indole catalyzed by ruthenium hydride with N-heterocyclic carbene ligand, 250th ACS National Meeting & Exposition, ボストン (アメリカ)、2015 年 8 月 18 日
- 藤居由基、嵩原綱吉、鈴木健之、藤岡弘道、周東智、有澤光弘、新規オレフィン異性化/エナミン閉環メタセシス (RCM) /1,3-双極子付加環化ワンポット反応の開発とそれを用いたイソインドロン[1,2-a]イソキノリンの合成、第 62 回有機金属化学討論会、関西大学千里山キャンパス (吹田)、2015 年 9 月 9 日
- 山下航平、藤居由基、吉岡祥平、藤岡弘道、有澤光弘、エインメタセシス/異性化/Diels-Alder ワンポット反応を用いた新規含窒素多環式化合物の合成とその機能解析、第 41 回反応と合成の進歩シンポジウム、近畿大学 11 月ホー

ル (東大阪)、2015 年 10 月 26 日

- Yuki Fujii, Hiromichi Fujioka, Satoshi Shuto, Mitsuhiro Arisawa, A One-Pot Olefin Isomerization/Aliphatic Enamine Ring-Closing Metathesis (RCM)/Oxidation/1,3-Dipolar Cycloaddition for the Synthesis of Isoindolo[1,2-a] isoquinoline, IKCOC-13, Rihga Royal Hotel KYOTO (京都)、2015 年 11 月 11 日
- 太田礼伊也、阿部敬介、小黒明広、西村和洋、有澤光弘、藤岡弘道、生体内ポリアミン標的 RNA アプタマーの取得に向けたハイブシン誘導体の合成、第 41 回反応と合成の進歩シンポジウム、近畿大学 11 月ホール (東大阪)、2015 年 10 月 27 日
- 吉岡祥平、藤居由基、藤岡弘道、有澤光弘、エインメタセシス/Diels-Alder/酸化の 3 連続ワンポット反応を用いた新規含ケイ素 多環式化合物の合成、日本薬学会 136 年会、パシフィコ横浜 (横浜)、2016 年 3 月 29 日
- 森田健太、太田礼伊也、青山浩、有澤光弘、藤岡弘道、ケトホスホニウム塩形成を利用したエノン存在下での α 、 β -不飽和エステルのおレフィン部位選択的変換法の開発、第 36 回有機合成若手セミナー「明日の有機合成を担う人のために」、京都薬科大学 (京都)、2016 年 8 月 9 日
- 森田健太、太田礼伊也、青山浩、有澤光弘、藤岡弘道、エノン存在下 α 、 β -不飽和エステル選択的変換法の開発と環状エーテル合成への応用、第 46 回複素環化学討論会、金沢歌劇座 (金沢)、2016 年 9 月 28 日
- 森田健太、太田礼伊也、青山浩、有澤光弘、藤岡弘道、ホスホニウム塩中間体を用いた one-pot エーテル環合成法の開発、日本薬学会第 137 年会、東北大学川内キャンパス (仙台) 2017 年 3 月 24 日

[図書] (計 1 件)

- 中川昌子、有澤光弘、ヘテロ環の化学: 基礎と応用、東京化学同人、2016

[産業財産権]

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有澤光弘 (Mitsuhiro ARISAWA)
大阪大学・大学院薬学研究科・准教授
研究者番号: 40312962

(2) 研究分担者

西村 和洋 (Kazuhiro NISHIMURA)
千葉大学・大学院薬学研究院・准教授
研究者番号：60302569

(3) 連携研究者

小黒 明広 (Akihiro OGURO)
東京慈恵会医科大学・医学部・講師
研究者番号：00292508