

## 論文審査の結果の要旨

氏名：吉田 尚 恵

博士の専攻分野の名称：博士（工学）

論文題名：計算化学的手法を用いた RNA アプタマーの分子認識機構に関する研究

審査委員：(主 査) 教授 春 木 満

(副 査) 教授 石 原 務

教授 沼 田 靖

准教授 山 岸 賢 司

産業技術総合研究所 上席研究員 都 築 誠 二

RNA アプタマーは、標的とするタンパク質に対して高い親和性と特異性をもって結合することができる核酸分子であり、次世代技術として医薬品や診断薬、バイオセンサーなど幅広い分野での応用が期待されている。リン酸基によるマイナスの電荷をもつ RNA アプタマーは、表面電荷がプラスに帯電した標的タンパク質としか結合できないと考えられていた。しかし、近年ヒトが持つ最も一般的な抗体 (IgG) で、分子表面にプラスの電荷が少ない IgG の Fc 領域に特異的に結合するアプタマーが報告され、RNA アプタマーと標的タンパク質との結合は、静電力だけではなく、分散力に起因する相互作用も、RNA アプタマーと標的タンパク質との結合に重要な役割を果たしていると考えられるようになった。さらに、構造が柔軟な RNA アプタマーは、標的とするタンパク質の形に合わせた複雑な構造を作り出し、標的タンパク質と強く結合していると考えられる。しかしながら、現在まで RNA アプタマーがどのように標的タンパク質を認識し、高い親和性によって結合するのか、その分子論的なメカニズムは明らかとされていない。RNA アプタマーとタンパク質間に働く複雑な分子間相互作用や、RNA アプタマーの動的な構造変化を、実験的な観測のみから明らかとすることは困難である。以上の背景から、本論文では、RNA アプタマーの動的な構造変化を解析できる分子動力学(MD)計算と、RNA アプタマーと標的タンパク質との分子間相互作用を詳細かつ高精度に解析できる量子化学計算を用いて、RNA アプタマーと標的タンパク質との分子認識機構の解明を試みた結果が述べられている。

本論文は 5 章から構成されている。

第 1 章は、序章であり、本研究の背景や工学的意義が述べられ、RNA アプタマーについて概説し、本論文の目的が明確に説明されている。

第 2 章では、MD 計算を用いて RNA アプタマーの構造の動的挙動を解析した結果について述べている。まず、修飾基が導入されたヌクレオチドに対して、MD 計算を汎用的に実行できる力場を作成したことについて示されている。続いて、作成した力場を用いて、RNA アプタマーに対する MD 計算を行い、標的分子との結合に伴う RNA アプタマーの構造の動的挙動について明らかとされていた。さらに、化学修飾の異なる様々な配列の RNA アプタマーに対して、その構造の動的挙動を比較し、化学修飾がアプタマーの構造の動的挙動に与える影響を明らかとされていた。これらの解析を通じて、RNA アプタマーの分子認識機構について、「RNA アプタマーの構造的な側面」から考察されている。

第3章では、量子化学計算によるRNA アプタマーと標的タンパク質との分子間相互作用の解析について述べている。生体分子に対する量子化学計算を可能としたフラグメント分子軌道(FMO)計算を用いて、塩基ごとの分子間相互作用を、静電力の寄与が大きな Hartree-Fock (HF)法で計算される部分と、ほぼ分散力の寄与に対応する電子相関の部分に分割して解析する手法について説明されている。そして、この解析手法を用いて、「静電力が結合に重要な塩基」と「分散力が結合に重要な塩基」に分けて、標的タンパク質との結合に重要な役割を持つアプタマーの塩基が特定されていた。これらの解析を通じて、RNA アプタマーの分子認識機構について、「RNA アプタマーの形成する相互作用エネルギーの側面」から考察されている。

第4章では、MD 計算を用いて解析した「RNA アプタマーの構造的な側面」と FMO 法による量子化学計算を用いて解析した「RNA アプタマーの形成する相互作用エネルギーの側面」の両面から、アプタマーの標的タンパク質への結合を支配している物理化学的な要因について推論した結果について述べている。そして、より活性を高める新たなアプタマーの設計指針を提示し、ヒト抗体に対する結合親和性をより向上させた新しい RNA アプタマーの論理的な分子設計につなげている。最後に、論理的に分子設計したアプタマーについて実際に化学合成を行い、その結合親和性を向上させることに成功している。

第5章では、本研究で得られた結果を総括して述べている。

以上に述べたように、本論文では計算化学手法を用いて RNA アプタマーが標的分子をどのように認識し結合するのか、その分子論的なメカニズムを明らかとするとともに、明らかとしたメカニズムに基づいて、標的とするタンパク質に対してより結合親和性の高いアプタマーの設計にも至っている。また、研究に用いられている計算手法、およびその解析手法も適切である。このことから、本論文の成果は、アプタマーの分子認識機構の解明にとどまらず、新規アプタマー開発という工学的な寄与も考えられ、きわめて独創性の高い研究成果がまとめられたものと判断できる。

このような研究成果が得られたことは、論文提出者の豊富な学識と優れた研究能力を裏付けるものである。よって本論文は、博士（工学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

令和2年2月20日