

## 非環状型人工核酸 SNA, L-aTNA の細胞内取り込み経路と細胞内動態の解析

(名大院工<sup>1</sup>・名大工<sup>2</sup>) 神谷 由紀子<sup>1</sup>・○坂下 清佳<sup>2</sup>・浅沼 浩之<sup>1</sup>

Analyses of intracellular uptake pathways and dynamics of acyclic artificial nucleic acids SNA and L-aTNA (<sup>1</sup>Graduate School of Engineering, Nagoya University, <sup>2</sup>School of Engineering, Nagoya University) Yukiko Kamiya,<sup>1</sup> ○Kiyoka Sakashita,<sup>2</sup> Hiroyuki Asanuma<sup>1</sup>

We have developed nucleic acid drugs using acyclic artificial nucleic acids SNA and L-aTNA. To increase the efficacy, it is important to improve the delivery efficiency to the target localization sites in cells. However basic mechanisms of cellular uptake and intracellular transport of the oligonucleotides have not been fully understood. In this study, we analyzed the cellular uptake pathways and intracellular dynamics of SNA, L-aTNA, and ribose-type artificial nucleic acids. Co-localization analyses revealed that SNA and L-aTNA are taken up into cells by endocytosis as well as DNA. The result obtained with various inhibitors of the endocytosis pathway indicated that the endocytosis pathway of oligonucleotides depends on the chemical structure of the artificial nucleic acids and that cellular uptake of SNA and L-aTNA is controlled by a unique mechanism.

**Keywords :** *Acyclic artificial nucleic acids, Intracellular uptake, Intracellular dynamics, Antisense oligonucleotides*

核酸医薬品の性能向上を目指し、我々のグループでは非環状型人工核酸である SNA、L-aTNA を用いたアンチセンス核酸や siRNA などの開発に取り組んできた。<sup>[1,2,3]</sup> これらの核酸医薬品の高性能化を達成するためには、細胞導入効率や細胞内標的部位への移行性を向上させる設計を見出すことが

重要である。しかし、SNA、L-aTNA を含め、オリゴ核酸の細胞内移行や細胞内輸送機構は不明な点が多い。そこで本研究では、非環状型人工核酸 SNA、L-aTNA、並びに、リボース型人工核酸における細胞内取り込み経路や細胞内動態を明らかにすることを試みた。

蛍光基を修飾した SNA、L-aTNA および DNA や 2'-OMe-RNA からなるオリゴ核酸を調製しイメージング解析を行った。細胞内輸送関連タンパク質との共局在解析の結果、SNA や L-aTNA は DNA 等と同様にエンドサイトーシスによって細胞に取り込まれることがわかった。そこで、各種エンドサイトーシス経路の阻害剤を用いた解析を行ったところ、SNA や L-aTNA は DNA 等とは異なる経路で細胞内に取り込まれることが明らかになった。以上のことから、オリゴ核酸の細胞内取り込み経路は人工核酸の化学構造に依存しており、SNA や L-aTNA の細胞内移行は独自の機序により制御されていることを見出した。

[1] Y. Kamiya, *et al.*, *ChemBioChem*, **2014**, *15*, 2549-2555.

[2] B.T. Le, *et al.*, *RSC Adv.*, **2017**, *7*, 34049-34052.

[3] Y. Kamiya, *et al.*, *ChemBioChem*, **2017**, *18*, 1917-1922.

