

非環状型人工核酸を用いた Gapmer 型アンチセンス核酸の毒性軽減法の開発

(名大院工¹) ○樋口 昌也¹・神谷由紀子¹・浅沼 浩之¹

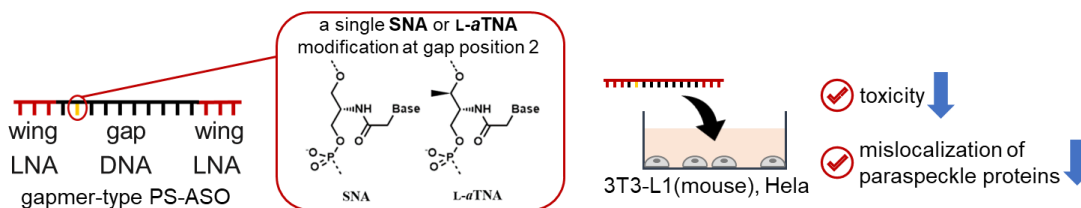
Mitigating the toxicity of gapmer-type antisense oligonucleotide by using acyclic nucleic acid (¹*Graduate School of Engineering, Nagoya University*) ○Masaya Higuchi,¹ Yukiko Kamiya,¹ Hiroyuki Asanuma¹

Although phosphorothioate-modified gapmer-type antisense oligonucleotides (PS-ASOs) show high antisense activity, PS-ASOs induce hepatotoxicity depending on chemical structures or sequences. In this work, we attempted to mitigate the toxicity of PS-ASO by modification with acyclic nucleic acid: Serinol nucleic acid (SNA) and acyclic L-Threoninol nucleic acid (L-*a*TNA), which were developed in our laboratory. The cell death caused by transfection of toxic PS-ASO was reduced by modified PS-ASO in which a single SNA or L-*a*TNA was introduced at position 2 in a gap region of toxic PS-ASO. It is known that the paraspeckle component protein P54nrb mislocalized to nucleoli upon introduction of toxic PS-ASO. Immunostaining analyses revealed that the mislocalization of P54nrb was decreased in the cells transfected with the modified PS-ASO. These results indicated that inhibition of the unexpected interaction between PS-ASO and intracellular proteins by SNA or L-*a*TNA resulted in reduced toxicity.

Keywords : Antisense oligonucleotide therapy; artificial nucleic acid; SNA

ホスホロチオエート(PS)化 Gapmer 型アンチセンス核酸 (PS-ASO) は高いアンチセンス活性を示すが、用いる核酸構造や配列に依存して毒性を示すことが明らかとなっている。本研究では、当研究室で開発された非環状骨格を有する人工核酸 Serinol Nucleic Acid (SNA)¹⁾や acyclic L-Threoninol Nucleic Acid (L-*a*TNA)²⁾を用いて PS-ASO の毒性軽減を試みた。

毒性を示す PS-ASO に対し、毒性発現に寄与するといわれている gap 部位の 5' 末端側から 2 残基目(以下 gap 位置 2 と呼称)を、SNA および L-*a*TNA で置換すると、PS-ASO の導入による細胞死が抑制された。このことから、SNA および L-*a*TNA の導入は、PS-ASO の細胞毒性を改善できることを明らかとした。また、毒性を示す PS-ASO は、paraspeckle 構成タンパク質である P54nrb を核小体へ誤局在させ、毒性を誘導することが知られている。P54nrb の免疫染色の結果、gap 位置 2 へ SNA および L-*a*TNA を導入した PS-ASO では、P54nrb の誤局在が抑制されることが明らかとなった。このことから、SNA あるいは L-*a*TNA の導入により、PS-ASO と細胞内タンパク質との望まない相互作用が抑制できることを見出した。以上のことから、SNA および L-*a*TNA は、gapmer 型 PS-ASO の毒性を改善できる人工核酸として、核酸医薬開発に有用であることが示された。



1) H. Kashida, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 1285-1288.

2) K. Murayama, *et al.*, *Chem. Commun.* **2015**, 51, 6500-6503