

## 膜透過性核酸 MPON は効率的に核移行しエキソンスキッピングを促進する

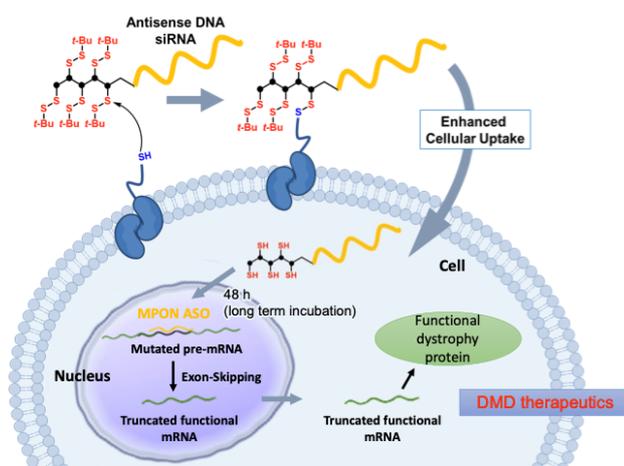
(名大院理<sup>1</sup>・マードック大学<sup>2</sup>・理研<sup>3</sup>・ナノ医療イノベーションセンター<sup>4</sup>・京都府立医科大学<sup>5</sup>・糖鎖生命コア研究所<sup>6</sup>) ○平岡 陽花<sup>1</sup>・Zhaoma Shu<sup>1</sup>・Bao Tri Le<sup>2</sup>・益田 恵子<sup>3</sup>・中本 航介<sup>1</sup>・林 光太郎<sup>4</sup>・阿部 奈保子<sup>1</sup>・木村 康明<sup>1</sup>・Rakesh N. Veedu<sup>2</sup>・清水 義宏<sup>3</sup>・内田 智士<sup>5</sup>・阿部 洋<sup>1,2,6</sup>

Membrane permeable oligonucleotide (MPON) modified with disulfide units induces efficient exon skipping through enhanced membrane permeability and nucleus internalization (<sup>1</sup>Grad. Sch. of Sci., Nagoya Univ., <sup>2</sup>CMMIT, Murdoch Univ., <sup>3</sup>RIKEN, <sup>4</sup>iCONM, <sup>5</sup>Grad. Sch. of Med., Kyoto Pref. Univ. of Med., <sup>6</sup>iGCORE) ○Haruka Hiraoka<sup>1</sup>, Zhaoma Shu<sup>1</sup>, Bao Tri Le<sup>2</sup>, Keiko Masuda<sup>3</sup>, Kosuke Nakamoto<sup>1</sup>, Kotaro Hayashi<sup>4</sup>, Naoko Abe<sup>1</sup>, Yasuaki Kimura<sup>1</sup>, Rakesh N. Veedu<sup>2</sup>, Yoshihiro Shimizu<sup>3</sup>, Satoshi Uchida<sup>5</sup>, Hiroshi Abe<sup>1,2,6</sup>

In order to improve the cell permeability of nucleic acid drugs, we developed membrane permeable oligonucleotide (MPON) modified with disulfide units. Microscopic observation and inhibitory assay suggested that MPON achieved ultrafast and spontaneous uptake by direct transfer into cytosol via the binding with membrane proteins. We also found that MPON existed in nucleus 48-72 hours after addition, implicating the potential of MPON to target nuclear DNA. So then, MPON targeting the mutated *dmd* gene, a responsible factor of muscle dystrophy, was administrated to disease-modeled mice cells. As a result, it induced the removal of mutated sequence due to the inhibition of splicing by MPON binding. This research indicated the possibility to achieve the efficient delivery of nucleic acid drugs using MPON.

**Keywords :** Nucleic acid drug, antisense DNA, disulfide modification, exon skipping

核酸医薬の課題である膜透過性の低さを解決する手段として、我々の研究室では、ジスルフィドユニットを修飾したオリゴ核酸を開発し、膜透過性核酸 MPON と名付けた。顕微鏡観察および阻害実験の結果から、MPON は、エンドサイトーシスを介さず膜タンパク質との結合によって直接かつ超高速に細胞質へ導入されると示唆された。さらに MPON の添加後 48-72 時間で核移行が観察され、核内 DNA を標的とできる可能性が示された。そこで、筋ジストロフィーの原因となる変異 *dmd* 遺伝子のスプライシング部位を標的とするアンチセンス核酸を MPON 化して疾患モデルマウスの細胞に導入したところ、やはり 48-72 時間後に、核内でのスプライシング阻害を介した変異配列の除去が確認された。これは MPON を利用した有用な医薬品送達の実現可能性を示すものである。



Graphical abstract : Hiraoka and Shu et al., *ChemBioChem*, **22**(24), 3437, 2021