

98 炎症治療を志向した高性能アンチジーン核酸の開発	張 功幸
----------------------------	------

**【目的】** 二重鎖 DNA を配列特異的な三重鎖核酸形成により認識できる一本鎖のオリゴ核酸（アンチジーン核酸）はゲノム DNA を標的とする創薬材料への適用が期待できる。しかし、形成される三重鎖核酸の安定性は低く、三重鎖形成可能な二重鎖 DNA 配列は限定されるため、アンチジーン核酸の実用に向けた研究はあまり行われていない。

しかし、アンチジーン核酸は遺伝子本体を標的とするため、1. 既存の核酸医薬と比べて量論的に効率が良い、2. 工夫次第で遺伝子の発現促進が可能、3. 変異誘発等によるゲノムレベルでの遺伝子異常の修復（遺伝性疾患の完治）への応用なども期待できる。

私たちはこれまで“三重鎖の安定性”と“標的配列の制限”を克服できるアンチジーン核酸材料の開発を手掛け、様々な化学修飾核酸を見出してきた。しかし、これまで材料開発に注力し、その実用展開は全く行っていなかった。このような背景下、私たちが開発した材料等をアンチジーン核酸の実用に向けたアプリケーションへと展開すべく、共同研究者とともに Robo4 アンチジーン核酸の創製を目指した。

**【方法】** Robo4 の発現は *Robo4* 遺伝子の転写開始点付近に転写因子（SP1 や GABP など）が結合することが鍵となるため、転写因子結合部位や転写開始点をターゲットとしたアンチジーン核酸を設計した。その際、標的部位だけでなく標的の二重鎖 DNA との結合親和性を向上させるための化学修飾の導入も検討した。そのアンチジーン効果は、Robo4 発現細胞である HUVEC を用いて、リアルタイム RT-PCR による Robo4 mRNA 発現量測定（ハウスキーピング遺伝子 *GAPDH* の mRNA 量で補正）により評価した。

**【結果】** Methylene-EoDNA 修飾が二重鎖 DNA と形成した三重鎖核酸を大きく安定化できることを融解温度測定により明らかにし、その安定化能は LNA（高い三重鎖核酸安定化能を持つ核酸材料）と同程度であった。次に、LNA や methylene-EoDNA 修飾されたアンチジーン核酸を用いて、Robo4 mRNA 発現量の抑制能を指標にアンチジーン効果を調べた。使用するアンチジーン核酸の濃度やリン酸ジエステル結合部のホスホロチオエート修飾など種々検討した。結果の一部を下図に示す。最終的には、400 nM の濃度において、Robo4 mRNA の発現量（補正後）を 60% 減少させるアンチジーン核酸を見出すことに成功した。

HUVEC 細胞におけるアンチジーン核酸による Robo4 mRNA 発現抑制能

