

# ヌクレアーゼ耐性型人工核酸の 創製とそのノックダウン効果

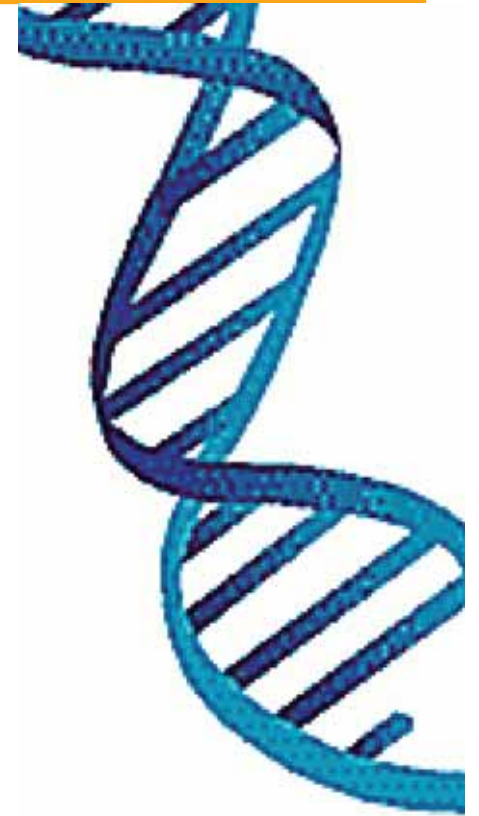
岐阜大学 工学部 生命工学科  
教授 北出 幸夫

人工

siRNA

&

miRNA

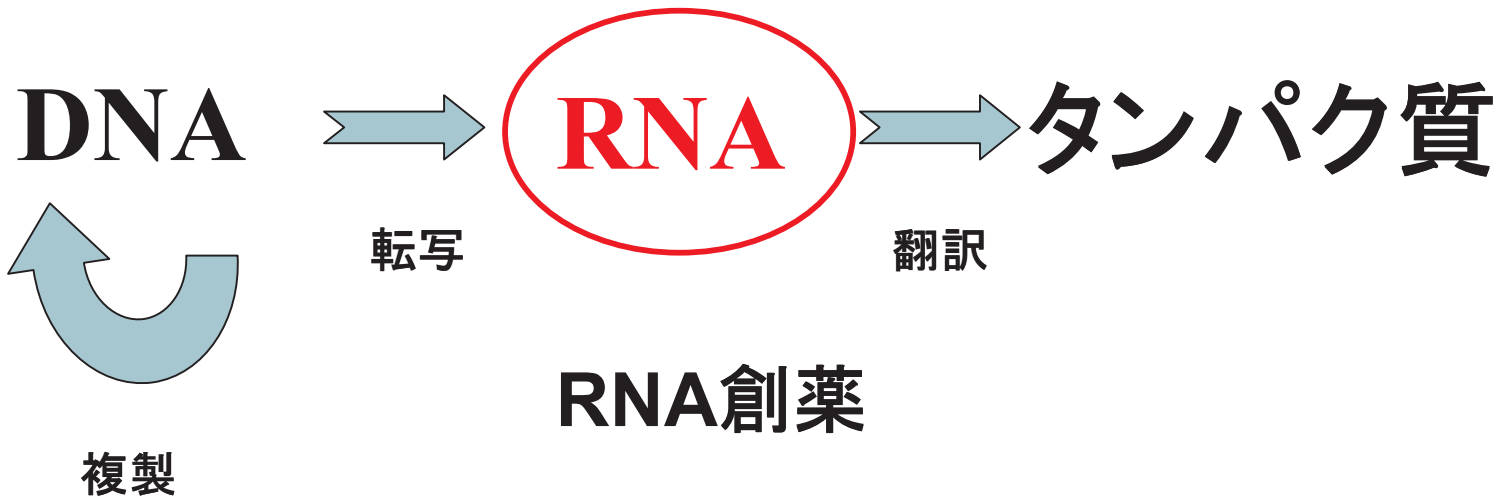


# 遺伝情報の流れ

30億塩基対  
ヒト遺伝子22,000

mRNA, tRNA,  
rRNA, リボザイム、  
siRNA, マイクロRNA

機能発現



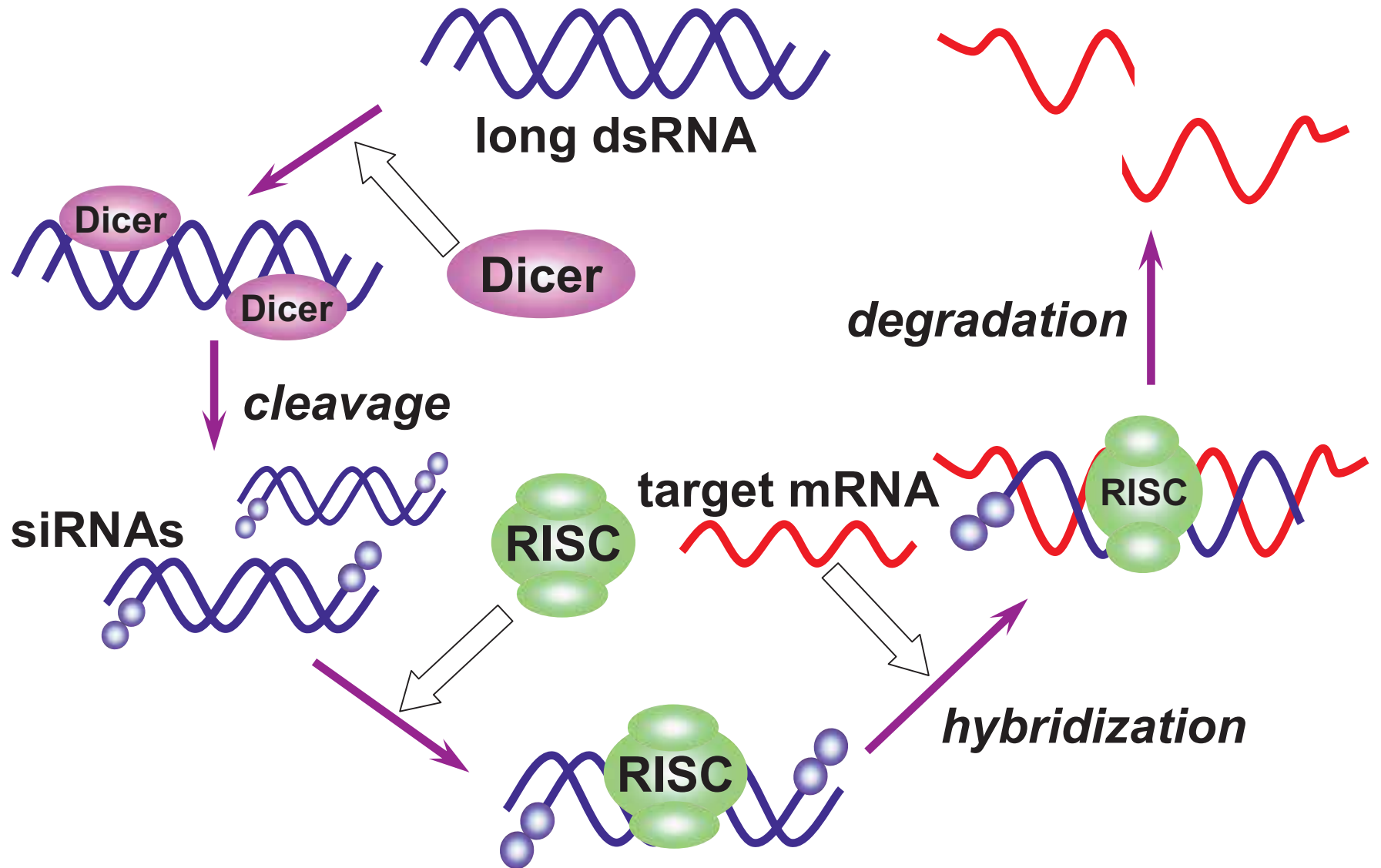
タンパク質を作らないRNA 23,000  
2重鎖DNAからのdsRNA 36,000

A G C T

A G C U

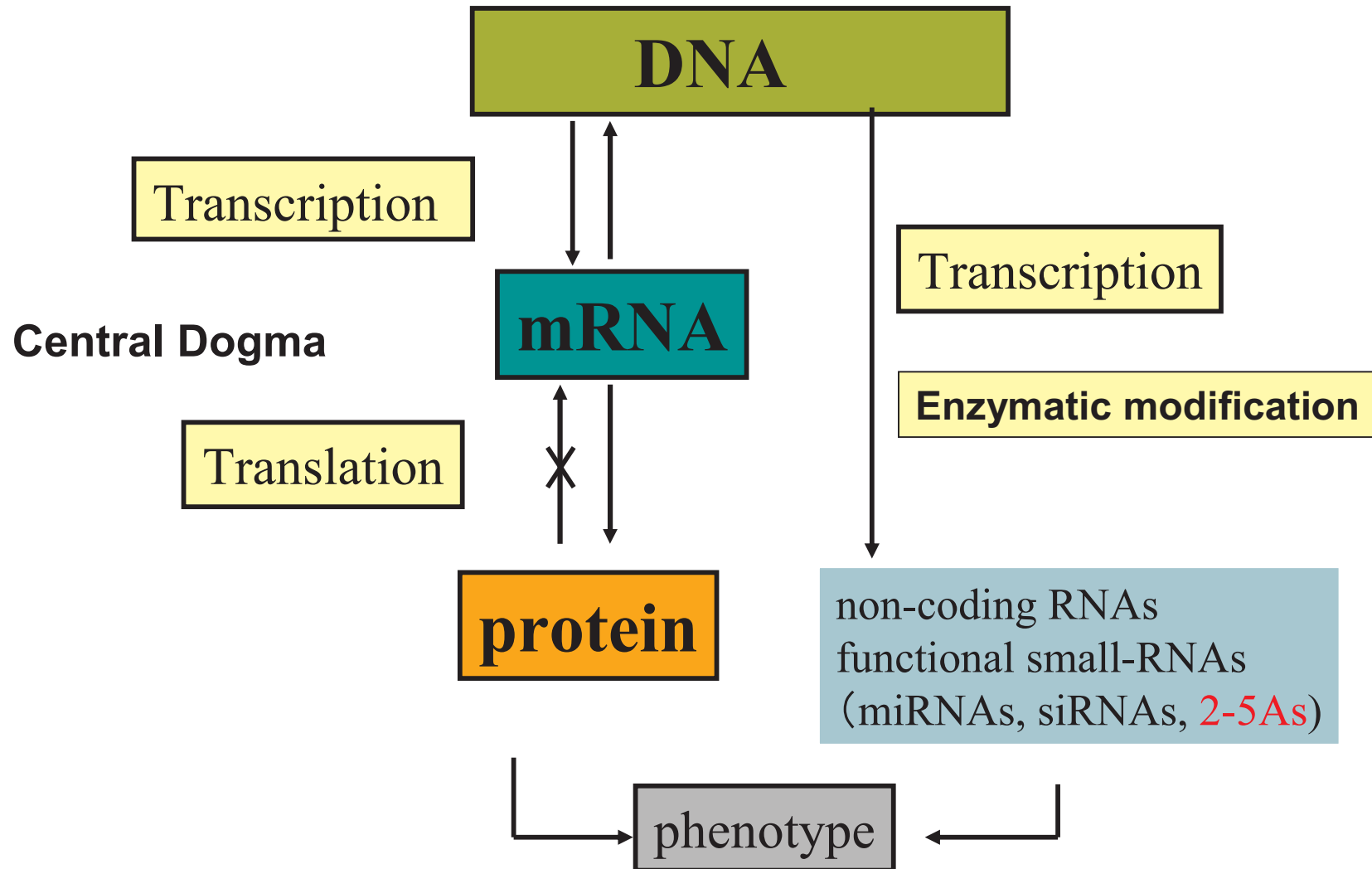
20種のアミノ酸

# RNA干渉

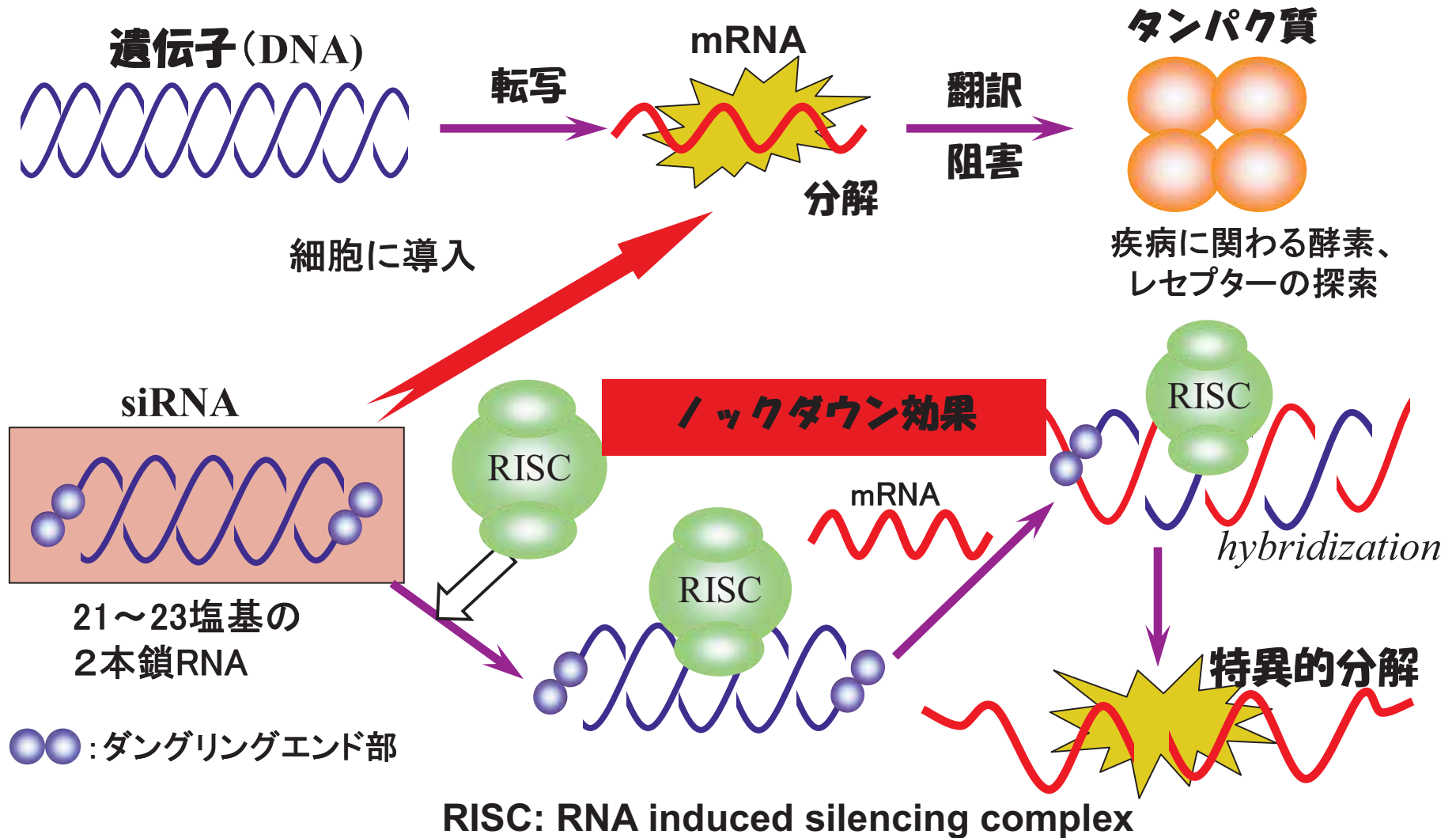


RISC: RNA induced silencing complex

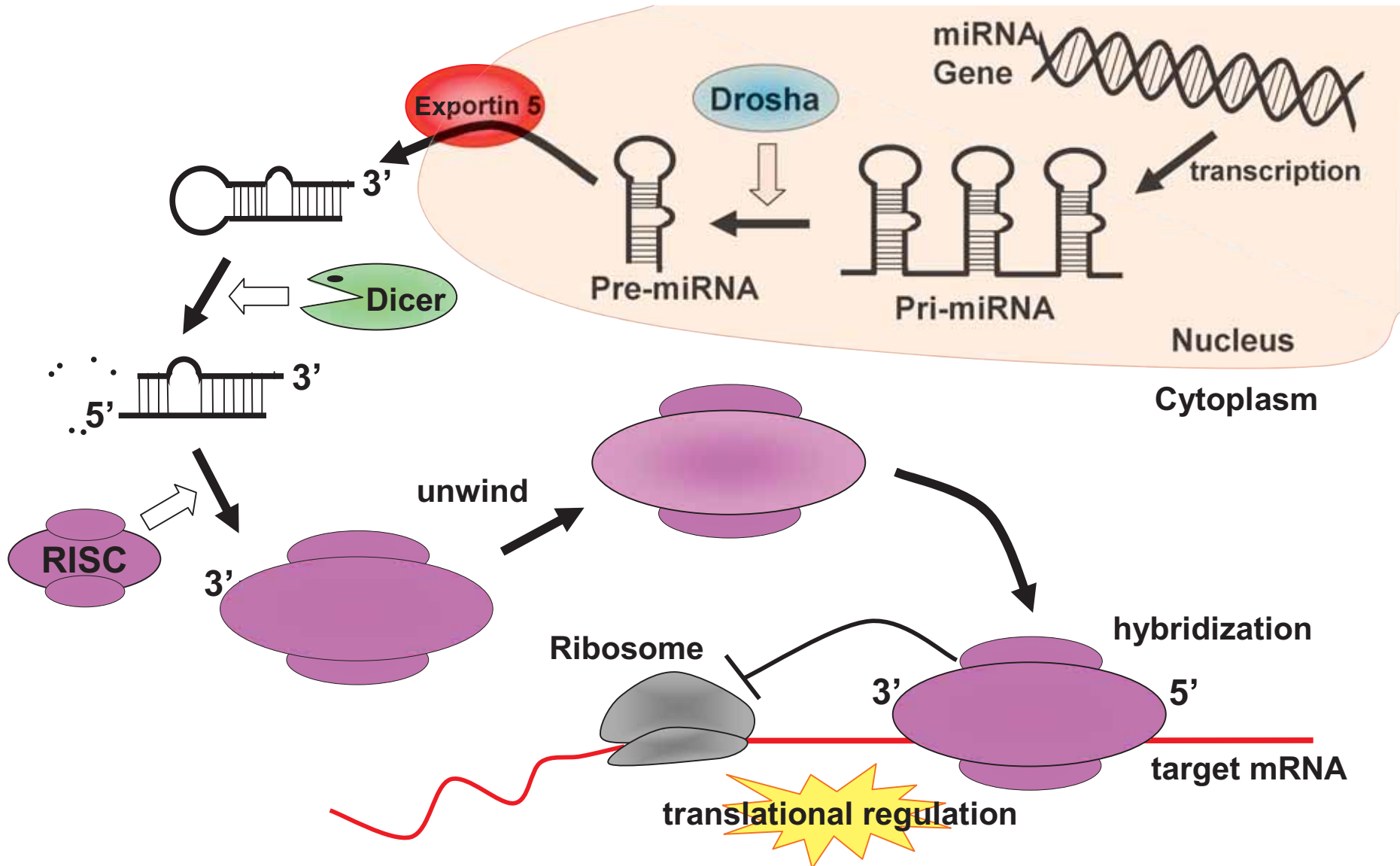
# 遺伝子発現



# siRNAの概念

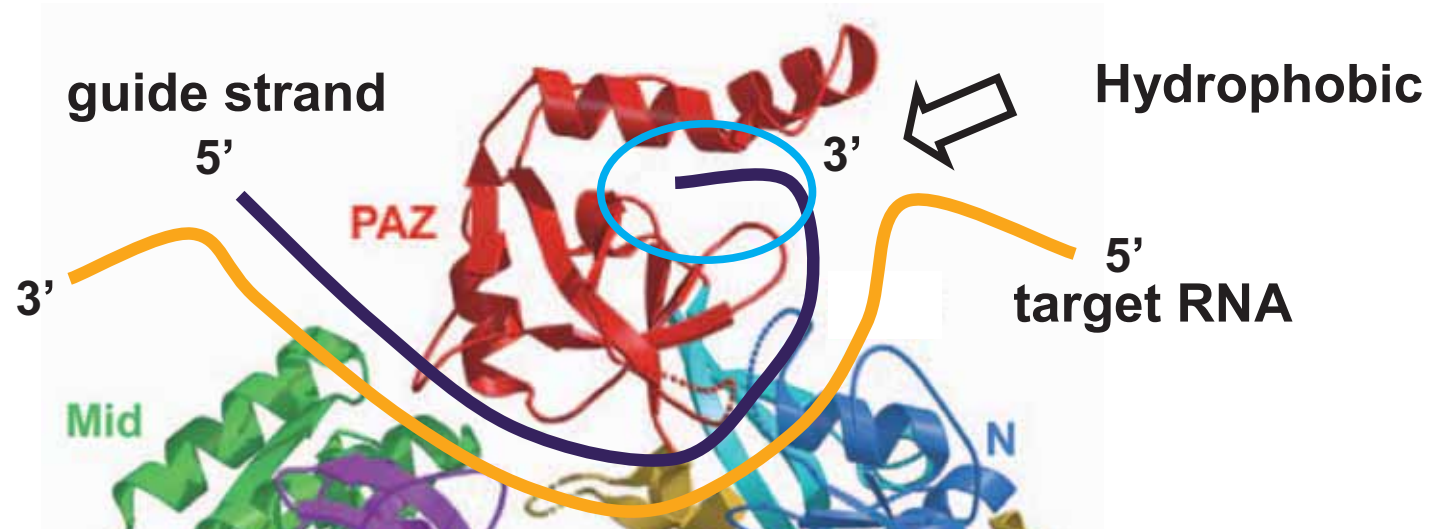


# マイクロRNA の概念

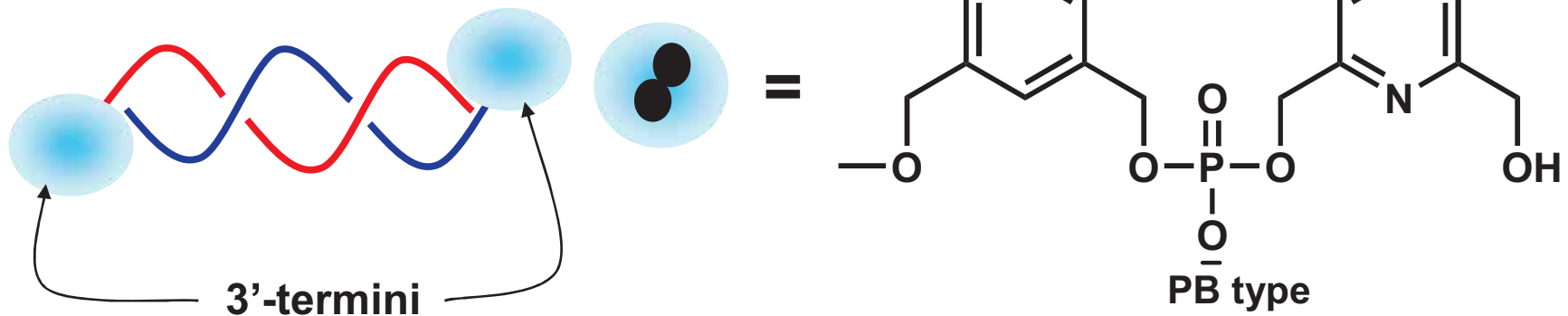


# RISCと二本鎖RNAの結合

J.J. Song, L. Joshua-Tor, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **16**, 5-11. (2006)



synthetic small RNA



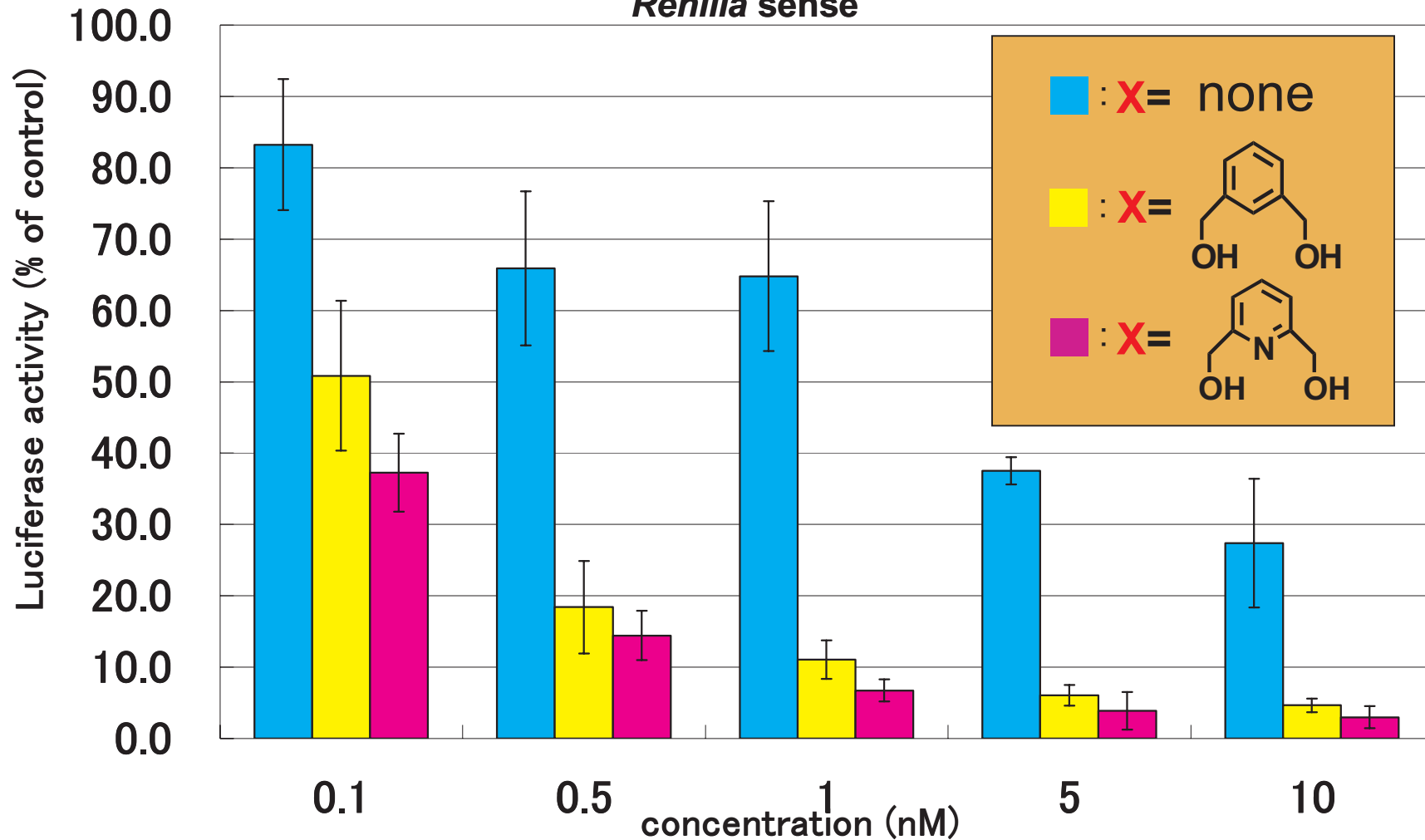


# 人工siRNAのノックダウン効果

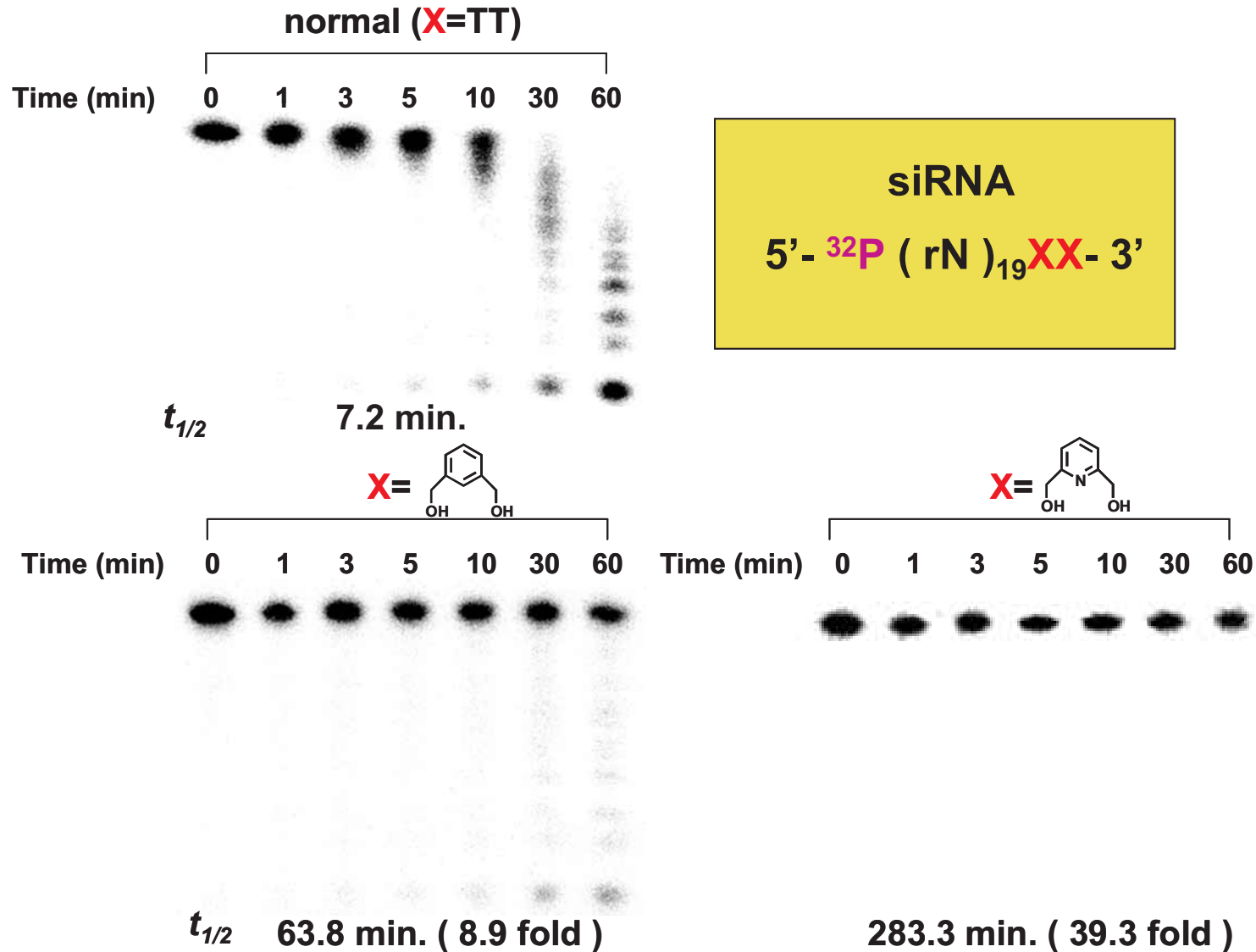
*Renilla antisense*



*Renilla sense*



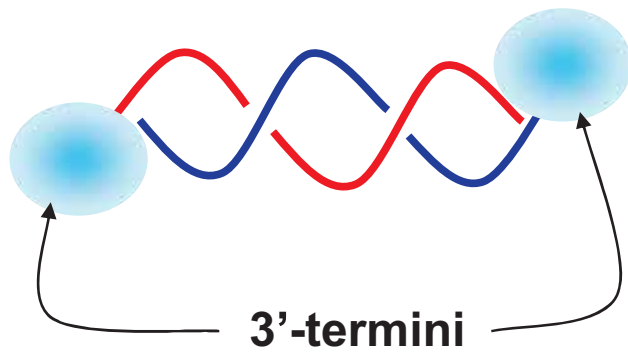
# 人工siRNAのヌクレアーゼ耐性



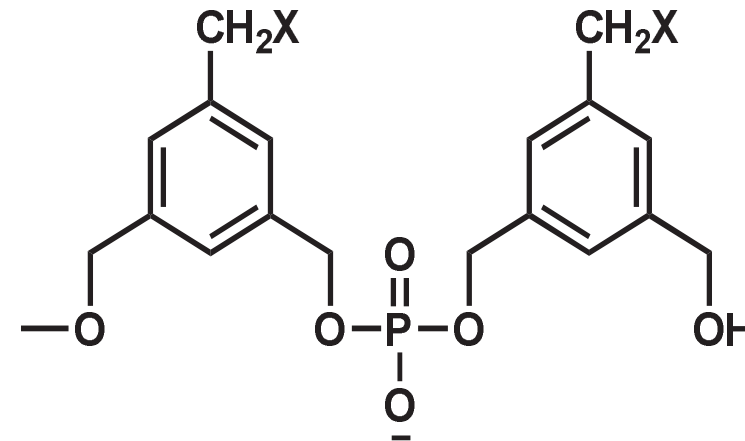
2 $\mu$ M oligonucleotide, 0.3u/mL SVP, 37°C; SVP: snake venom phosphodiesterase

# 新開発の人工RNA分子

## 人工siRNAの構造

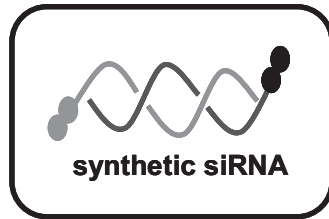


## ダングリングエンド部の構造



X = H; <sup>m</sup>B<sup>m</sup>B type  
X = F; <sup>f</sup>B<sup>f</sup>B type

# 新規人工siRNAのノックダウン効果

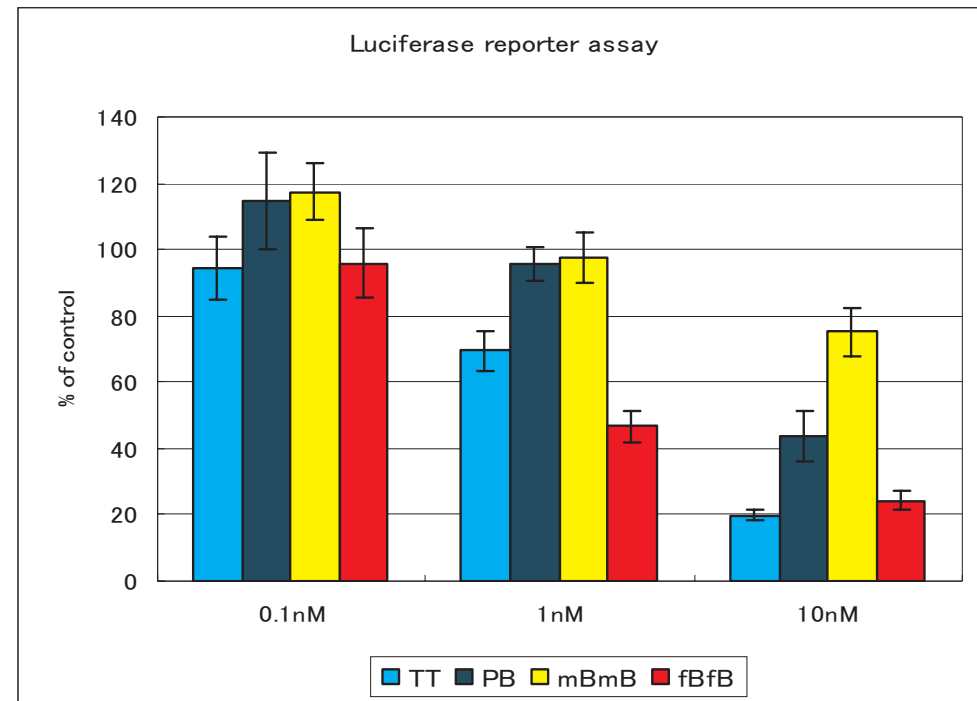


Renilla antisense



Renilla sense

	X	Y
TT		
PB		
mBmB		
fBfB		



# 新技術の特色

---

- アミダイト体&CPG樹脂体が容易に合成可能
- メチル体の生物活性を遙かに凌駕する顕著な  
ノックダウン効果
- 現在までに開発した人工siRNAの中で最も強い  
生物活性
- メチル基及びフルオロメチル基はPET置換基の  
導入が可能

# 従来技術とその問題点

---

既に報告されている siRNA分子では

- ヌクレアーゼに起因する分解で不安定
- 目的の組織に到達させることが容易ではない
- 細胞への導入効率が低い

上記問題があり、効果的に  
利用されるまでには至っていない

## 想定される用途

---

- 本技術の特徴を生かすために、siRNAやmiRNAに適用することで、難治性疾患治療薬の面でのメリットが大きい
- また、メチル基やフルオロメチル基が置換したベンゼン誘導体はPETラベルにも活用可能

製薬メーカー

バイオ・生化学メーカー

核酸や糖を扱う食品会社



# 実用化に向けた課題

---

- 大量合成法の開発が未解決
- 毒性評価が未解決
- 今後、収率の向上について実験データを取得し、条件設定が必要
- 実用化に向けて、合成のスピードとコストの向上をできるよう技術を確立する必要

# 企業への期待

---

- 未解決の大量合成については、企業でのGLPやGMPLレベルでの合成技術の開発が期待
- 有機合成や化合物の生物評価する技術を持つ、企業との共同研究を希望
- RNA創薬を開発中の企業、核酸医療分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効

- 発明の名称：

オリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド誘導体を用いたオリゴヌクレオチド構築物、オリゴヌクレオチド誘導体を合成するための化合物及びオリゴヌクレオチド誘導体の製造方法

- 出願番号 : 特願2008-032022
- 出願人 : 岐阜大学
- 発明者 : 北出幸夫

## 岐阜大学産官学融合本部

産官学連携コーディネーター  
丸井 肇

TEL 058-293-3193

FAX 058-293-3346

e-mail [marupon@gifu-u.ac.jp](mailto:marupon@gifu-u.ac.jp)