

## ・光増感剤修飾オリゴ核酸の細胞取り込みと光ノックダウン効果の評価

(東京科学大<sup>1)</sup>)○吉田 七唯<sup>1</sup>・金森 功吏<sup>1</sup>・金子 翔大<sup>1</sup>・小倉 俊一郎<sup>1</sup>・湯浅 英哉<sup>1</sup>

Evaluation of the cellular uptake and photoknockdown effects of photosensitizer-conjugated antisense oligonucleotides (School of Life Science and Technology, Institute of Science Tokyo)

○Nanai Yoshida,<sup>1</sup> Takashi Kanamori,<sup>1</sup> Shota Kaneko,<sup>1</sup> Shun-ichiro Ogura,<sup>1</sup> Hideya Yuasa<sup>1</sup>

In recent years, targeted gene knockdown therapies using RNAi technology are being put to practical use. However, long-term systemic exposure to siRNA drugs causes challenges of low tissue selectivity and off-target effects. In order to control the knockdown activity spatiotemporally by photoirradiation, we attached a photosensitizer (PS) to ASO and established a method for photooxidizing guanine (G) in a target RNA. We have employed a tiny PS, nitrobiphenyl (NBP), which exclusively produces  $^1\text{O}_2$ , ( $\Phi_{\Delta}$  0.93),<sup>1)</sup> modified ASOs with it and succeed in the photooxidation of G in target RNAs. In this study, timing in the transfection of NBP-ASO was optimized because there were concerns of ASO degradation by nucleases. An increase of fluorescence intensity was observed after photoirradiation of the transfected fluorescently labeled ASO, suggesting a possibility of photochemical internalization (PCI)<sup>2)</sup>.

**Keywords:** photosensitizer, antisense, photocontrol

近年、RNAi による標的遺伝子のノックダウン治療法が実用化されている。しかし siRNA 医薬が長期的に全身へばく露されることによるオフターゲット効果や組織選択性の低さが課題である。そこで、光照射で時空間的にノックダウン活性を制御するため、光増感剤(PS)をアンチセンス核酸(ASO)に修飾し、標的 RNA のグアニン(G)を 8-oxoG( $^{\circ}\text{G}$ )に光酸化する方法を確立した。これまでに我々は独自に開発した小型 ( $0.5 \times 1.0$  nm) で良好な  $^1\text{O}_2$  生成収率を示すニトロビフェニル (NBP;  $\Phi_{\Delta}$  0.93)<sup>1)</sup> を導入した ASO を用い、標的 RNA の G の光酸化に成功している。本研究では、ASO のヌクレアーゼによる分解が懸念されたため NBP-ASO のトランスフェクション時間の最適化を行った。また、蛍光標識 ASO のトランスフェクション後の光照射によって蛍光強度が増大したことから光化学的内在化(PCI)<sup>2)</sup>の可能性が示唆された。

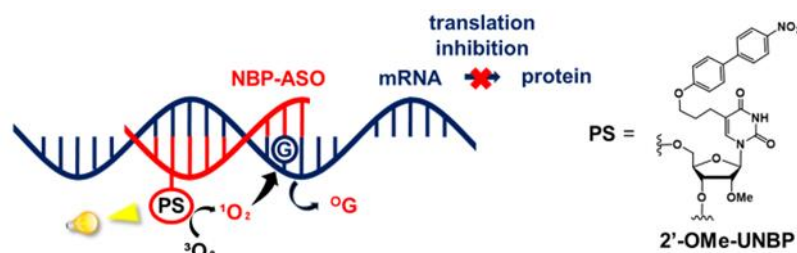


図 1 NBP-ASO を用いた mRNA の光ノックダウン

1) Y. Tsuga, et al. Chem. Asian J. 2019, 14, 2067-2071.

2) Youyong Yuan, et al. Angew. Chem. Int. Ed. 2015, 54, 11419-1423