

23K-pm01S

疎水性人工核酸を導入した細胞内移行性アプタマーの創製及び評価

○田中 敬介^{1,2}, 奥田 匠^{1,2}, 笠原 勇矢^{1,2}, 小比賀 聡^{1,2} (¹阪大院薬, ²医薬健栄研)

【目的】細胞内へ医薬品を送達する方法として、抗体と医薬品をコンジュゲートする方法が盛んに研究されている。しかし抗体はコストやコンジュゲート方法に課題を抱えている。そこで我々は化学合成で作製可能な核酸アプタマーに着目した。アプタマーによる医薬品の細胞内への送達を行うためにはキャリアーとして有望なアプタマーを効率的に取得する必要がある。標的細胞を用いてスクリーニングを行うことで、細胞内移行性を向上させるアプタマーと受容体の組み合わせを効率的、且つ複数同時に選別可能であると考えられる。

【方法】肺癌由来細胞に対して、cell-internalization SELEX¹を行うことで、アプタマーを創製した。その際、ライブラリに疎水性官能基を有する人工核酸を導入することで、細胞膜タンパク質との親和性を向上させることを志向した。アプタマーの細胞内移行量についてはリアルタイム PCR を用いて評価し、細胞内移行経路については蛍光顕微鏡を用いて評価した。

【結果及び考察】Cell-internalization SELEX を 8 サイクル行った結果、ライブラリ中の配列選別の進行を確認した。最終ライブラリから 10 配列を選択し、機能評価を行った。リアルタイム PCR による評価の結果、得られたアプタマーは天然ランダム配列の 20 倍以上の細胞内移行性を有することが明らかとなった。また蛍光顕微鏡による評価の結果、アプタマーの細胞内移行経路はエンドサイトーシス経路であることが示唆された。以上より、当初の狙い通り細胞膜タンパク質との親和性向上により、細胞内移行性の高いアプタマーを得られたことが明らかとなった。

1. Thiel, W. H. *et al.* *RNA Interference: Challenges and Therapeutic Opportunities*. **2015**, 187-199.