

ヘテロ二本鎖核酸(HDO)技術について

レナ社はHDO技術の独占的実施権のライセンスを受けています

レナセラピューティクス株式会社 | <https://www.renatherapeutics.com/> | info@renatherapeutics.com

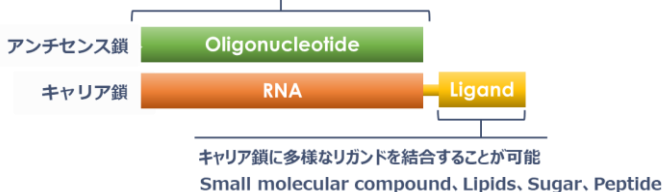
概要

ヘテロ二本鎖オリゴヌクレオチド (heteroduplex oligonucleotide、HDO) は、特定の遺伝子の転写産物の発現を調節するための治療薬として機能する核酸医薬であり、短鎖干渉RNA (siRNA) や一本鎖アンチセンス核酸 (ASO) の有効性をさらに向上し、毒性などの問題点を改善する可能性がある第3の核酸医薬として注目されるプラットフォーム技術です。レナセラピューティクス株式会社 (レナ) は、HDO技術の事業化を目的として設立された大学発ベンチャーです。レナは、アイオニスファーマシューティカルズ株式会社と武田薬品工業株式会社にそれぞれHDO技術のライセンスを供与しており、製薬企業とのHDO技術を用いた創薬に関する共同研究に力を入れています。

構造

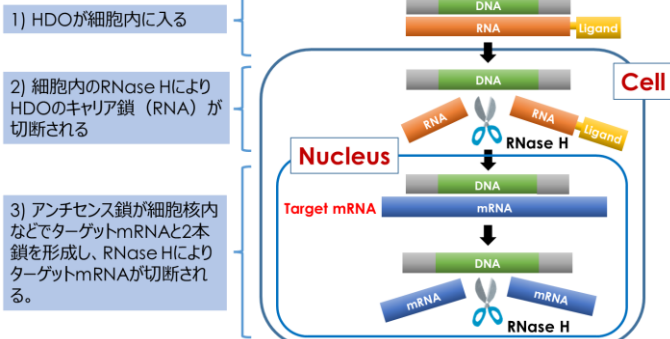
HDOは、標的遺伝子の転写産物に結合するアンチセンス鎖 (gapmer、mixmer、PMO他) と、それに相補的なキャリア鎖 (RNA) で構成される人工核酸です。キャリア鎖にリガンド (受容体リガンド、抗体、脂質等) を結合させるため、アンチセンス鎖の活性には影響を与えず、多様なリガンドを導入でき、細胞特異的なデリバリーが可能で、HDOは一本鎖核酸と比較し、核内移行性が高く、毒性が低い特徴があります。

RNase H 依存型 (RNA分解型) : Gapmer
 RNase H 非依存型 (RNA機能阻害型、スプライシング制御型) : Mixmer、PMO



作用機序

DNA gapmerを使用するRNaseH依存性アンチセンス効果の作用機序は次の通りです。

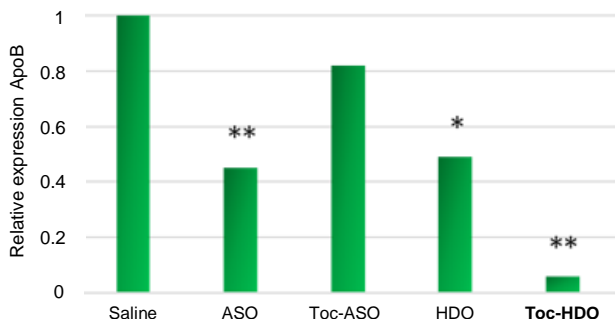


※HDOはRNaseH非依存性アンチセンス効果 (例えばエクソンスキッピング) にも対応可能です。

ノックダウン活性

リガンド結合HDOはASOよりも格段にノックダウン活性が優れています。

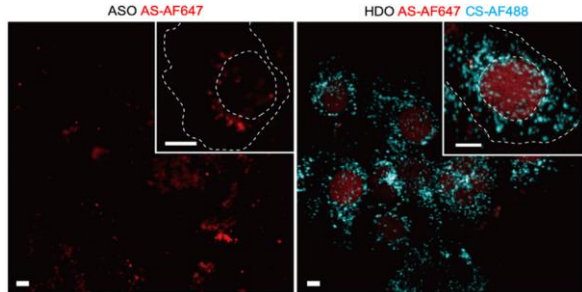
Dose : 0.75mg/kg of ASO, Toc-ASO, HDO, Toc-HDO;
 Administration : single bolus i.v.; Target : ApoB mRNA (mouse liver);
 Observation period : 3 days after dosing.



Nature Communications 2015 Aug 10;6:7969, Nishina K et al.

核内移行性

HDOは、ASOよりも核への移行性が優れています。アンチセンス鎖 (AS) をAF647、相補鎖 (CS) をAF488で標識しました。細胞株: Huh-7、ターゲット: イントロンApoB、HDOまたはASOの50nMトランスフェクション (n = 50) の条件下。右写真: ASの強力な明確な核シグナルが大部分のHDOトランスフェクト細胞で観察されました。左写真: 細胞全体に拡散または部分的に点在したASの弱い分布をASOトランスフェクト細胞で観察されました。

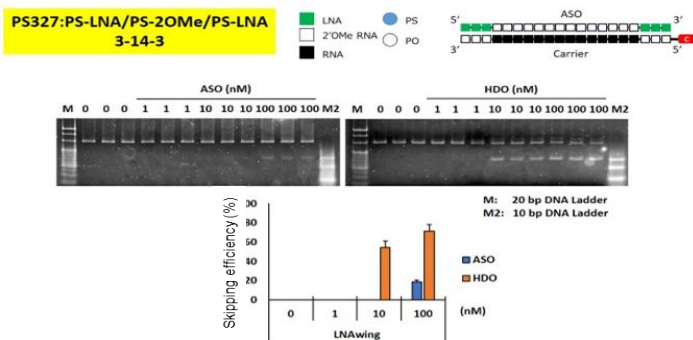


Mol Ther Nucleic Acids 2020 23; 1360-1370

Scale bar: 10µm

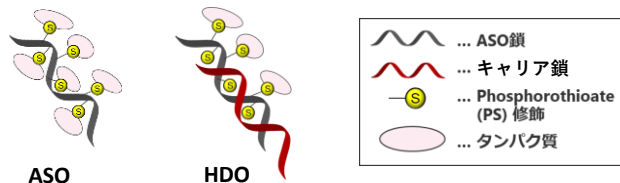
効率的なエクソンスキッピング

マウスpre-mRNA IL-1RacPエクソン9のスキッピング率を比較した結果、HDOはASOに比べ10倍以上の向上が見られました。
 ※スキッピング率 (%) = (スキップされたmRNAの量) / (スキップされたmRNAの量 + スキップされなかったmRNAの量) x 100



毒性軽減

HDOは非特異的なタンパク結合に起因する毒性軽減が期待されます。PS修飾の50%が二重らせん構造のGroove内に位置することにより、ASOに比べタンパク質との相互作用が減少することが一因です。



実際、HDOはASOと比較しアルブミンで約1/60、IgGに至っては1/500程度まで結合力が弱くなるとの報告があります (下表参照)。

<HDO、ASOとヒト血漿タンパク質との解離定数> (kd, µM)

	Albumin	Transferrin	IgG	Fibrinogen	A2M *1	HRG *2
ASO	10.4	7.3	0.9	0.3	0.044	0.009
HDO	762.9	450	>500	75	>3	>1

Gaus et al., Nucleic Acids Res 2019