

## 平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 事業名：革新的バイオ医薬品創出基盤技術開発事業
2. 研究開発課題名：骨格筋指向性のあるペプチド付加モルフォリノ核酸 DDS 技術の臨床応用に向けた開発
3. 研究開発代表者：日本医科大学 大学院医学研究科 教授 岡田尚巳
4. 研究開発の成果

本研究では、横隔膜が障害される筋ジストロフィーや脊髄性筋萎縮症を対象に、「高い安全性」、「高い細胞膜透過性」、「骨格筋と横隔膜への臓器指向性」を併せ持った、画期的な核酸医薬品の DDS 技術開発を行い、特許出願と国内製薬企業への技術導出を目標とし、以下に記すように平成 27 年度の研究開発を行った。

### ・技術導出先とのオプション契約の締結

技術導出先として国内製薬企業を候補として交渉を行なった。結果、P-PMO の提供に関して MTA を締結する予定である。さらに国内導出先として国内製薬企業複数社と相談中である。

### ・P-PMO のエクソン・スキップ誘導効果の検討

マウス株化細胞を対象に、PMO あるいは P-PMO の導入を行った。導入後、細胞より total RNA を回収し、RT-PCR を実施した。エクソン・スキップに用いた配列は公知のものとした。PCR 産物をアガロース電気泳動により確認したところ、PMO ないし P-PMO 非投与の細胞ではエクソン・スキップを起こした増幅産物は確認されないが、P-PMO を投与した細胞ではスキップした増幅産物が確認可能であった。このことから、*in vitro* において P-PMO を用いることで効率よくエクソン・スキップを誘導可能であることが判明した。

### ・中空粒子のゼータ電荷測定

高純度 AAV 中空粒子を調製し、電気泳動により純度を確認した。基礎検討として溶媒中におけるゼータ電位を測定した。この結果、ds-AAV, ss-AAV, 中空粒子でゼータ電位に差があることが示唆された。また、ゼータ電位測定の検討中に粒径の測定を行ったところ、粒径測定の際に算出される自己相関関数の切片値と、粒度分布が中空粒子の精製度の指標として用いることが可能であることがわかった。