



ÄKTAoligopilot User's Day 2007

核酸医薬実用化に向けたオリゴヌクレオチド大量合成の挑戦

日時 4月18日(水) 13:00~18:00
会場 GEヘルスケア バイオサイエンス株式会社 本社
〒169-0073 東京都新宿区百人町3-25-1
サンケンビルテング



プログラム

- 13:00-13:05 はじめに
核酸医薬の動向
- 13:05-13:35 「Market trend of nucleic acid medicine」
Lars Holmberg, Director of Industrial Molecular Biology, GE Healthcare
- 13:35-14:05 「siRNA 創薬の現状と課題」
株式会社アルファジェン 代表取締役 野澤 巖
- 14:05-14:20 -休憩-
- オリゴヌクレオチド大量合成技術**
- 14:20-14:50 「Large scale synthesis of oligo nucleic acid medicine」
Per Karlberg, Senior Product Manager, GE Healthcare
- 14:50-15:20 「2-シアノエトキシメチル保護基を用いた新規な RNA 合成法」
日本新薬株式会社 北川 英俊
- 15:20-15:35 -休憩-
- 15:35-16:05 「カスタムオリゴ業界におけるセミラージスケールオリゴの
今後の展開について」
シグマアルドリッチジャパン株式会社 ライフサイエンス事業部
プロダクションマネージャー 中矢 千恵
- 16:05-16:35 **ÄKTAoligopilot デモンストレーション**
- 16:35-16:45 総括
- 17:00-18:00 懇親会

核酸医薬の動向

Market trends of nucleic acid medicine

Lars Holmberg
Director Industrial Molecular Biology
GE Healthcare
Uppsala, Sweden

There is a considerable range of oligonucleotides which have the potential to be developed as drugs. Most of them can interfere with gene expression by targeting and cleaving mRNA. To these belong antisense oligonucleotides where RNase H is responsible for mRNA cleavage. They contain in general a phosphorothioate backbone, sometimes constructed as gapmers. A separate class is the agonists of Toll-Like-Receptors which activate the immune system by their presence of the CpG motif embedded in a phosphorothioate backbone. The most recent and very exciting development is the siRNAs, short pieces of double stranded RNA which have the ability to cleave the target mRNA after formation of a RISC complex. Yet another class of compounds are aptamers. They bind to target proteins rather than mRNA. Although the mechanism of action differs for the various types of oligonucleotides, they have a number of problems in common. Efficient cellular delivery is one of the major hurdles still awaiting improvement as does specific cell targeting. Many oligonucleotides are in different stages of clinical trials.

siRNA 創薬の現状と課題

株式会社アルファジェン
代表取締役 野澤 巖

1998 年、Fire (スタンフォード大学、元 Carnegie Institution of Washington) らが C エレガンスなど下等生物における長鎖二本鎖 RNA (dsRNA) による配列特異的な遺伝子発現制御機構を RNA 干渉 (RNAi) として報告したが、非特異的なインターフェロンの活性化に伴う細胞障害性のため哺乳動物細胞には応用できなかった。一方、2001 年の Tuschl (ロックフェラー大学、元独マックスプランク研究所) らによる 21~23mer の short interfering RNA (siRNA) に関する報告は、哺乳動物細胞への応用を可能にした点で画期的なものであった。以来、siRNA はポストゲノムシーケンスにおける遺伝子解析技術として広く使用されるに至ったこと、医薬品への応用検討が足早に進められていることは周知のことである。

すでに米国では、加齢性黄斑変性症を対象疾患とする 3 件 (Opko 社 : Acuity 社、Froptix 社及び eXegenics の三社合併、Sirna 社、Quark Biotech 社) の臨床試験、Alnylam 社による RSV を対象とした Ph-I 試験の合計 4 件が進行中である。これらの開発プログラムでは、生体内で不安定な siRNA の医薬品としての可能性をいち早く確認することを目的として、局所投与を介した臨床応用が進められている。今後、高コレステロール血症や各種がんに対する siRNA 薬の臨床開発が進められると思われるが、その際には、各種 DDS の応用が不可欠であると考えられる。各種化学修飾による siRNA 医薬の安定化やカチオン性リポソームを用いた siRNA 医薬のデリバリーの可能性、更には off-target 効果を回避するためのヒントが報告されるに至り、siRNA の医薬品への応用の可能性が一段と高まったと言える。本講演においては、siRNA の開発状況、問題点、今後の展望、更に、当社の血管新生能を有する siRNA 医薬の開発現状について概説する。

オリゴヌクレオチド大量合成技術

Large scale synthesis of oligo nucleic acid medicine

Per Karlberg
Sr. Product Manager
GE Healthcare, Life Sciences

The oligonucleotide market is evolving with a number of new oligonucleotide therapeutic approaches like RNAi, immunostimulating oligonucleotides, aptamers, transcription factor decoys and second generation antisense. At the same time new synthesis chemistries and reagents are developed. This calls for flexible oligonucleotide synthesis and purification solutions. As the projects develop and enter clinical phases, and ultimately commercialization, the synthesis and purification platform needs to be scalable. Quality and security of supply are other factors to consider.

This presentation will look at synthesis and purification solutions from GE Healthcare and by a number of examples show flexibility and scalability.

2-シアノエトキシメチル保護基を用いた新規な RNA 合成法

日本新薬株式会社
研究開発本部 東部創薬研究所
○北川英俊、柴佳伸、石山幸一、大木忠明、矢野純一

RNAi の発見により低分子 RNA (siRNA, miRNA 等) が医薬品として病気の治療に使用できる可能性が高まっており、RNA の化学合成研究に注目が集まっている。RNA の化学合成において最も重要な点は、既に確立されている DNA 合成とは異なり、2'-位水酸基の保護基の選択が必要となることである。この保護基は固相合成条件では安定であり、かつ、脱保護の段階では RNA の基本骨格に影響しない温和な条件下で容易に除去可能でなければならない。最も一般的な TBDMS 基を有したモノマー (アミダイト) は市販もされており幅広く RNA 合成に使用されている。しかし、その大きな立体障害のため縮合収率が DNA 合成に比べて低く、高純度の RNA を得る方法としては十分満足できるものではない。

そこで我々は、2'-位に立体障害が少なく不斉中心を持たない 2-シアノエトキシメチル基 (CEM 基) を有する 2'-O-CEM-アミダイトを考案し、それを利用した RNA (オリゴマー) の合成法の開発研究を行った。

2'-O-CEM-アミダイトを用いて、数種の RNA オリゴマーの合成検討を行った。担体からの切り出し、及び、塩基部の脱保護にはアンモニア水を使用する条件を用い、2'位の CEM 基の除去には TBAF を使用した。精製後に純度、及び、収量を確認したところ、TBDMS 基を用いる従来法に比べて高収率で高純度の RNA オリゴマーを得ることに成功した。

本方法論は、従来の TBDMS 法と同様に一般的な核酸合成機にて使用できることが明らかとなった。また、AKTA Oligopilot を用いても類似の条件にて効率良く合成できることが判り、スケールアップにも対応可能である。従来法に比較してより高い反応性を有しているため、RNA 製造という観点においても充分期待できる方法論である。

カスタムオリゴ業界におけるセミラージスケールオリゴの今後の展開について

シグマアルドリッチジャパン株式会社
ライフサイエンス事業部
プロダクションマネージャー 中矢 千恵

近年、医薬品業界においては、siRNAに関する研究が盛んになりつつあり、遺伝子創薬の観点から、多様な研究が進められています。これに伴い、カスタムオリゴに対する要求事項（ラインアップ、規格、供給量）も多様化してきました。最近では、小スケールでのスクリーニングで効果を認めた siRNA などを *in vitro* から *in vivo* の検討に、また動物実験から創薬に使用する動きがあり、カスタムオリゴについては、従来のマイクログラムスケールでの供給から、ミリグラム～グラムスケールでの供給を求める声が高まっています。そのため、大量のカスタムオリゴを迅速かつ高品質で供給する必要が出てきました。弊社では、このニーズに対応すべく、セミラージスケールのカスタムオリゴ製品の供給サービスを開始したので、今回、そのサービスの概要と今後の展開についてご紹介させていただきます。

一方、弊社の原料バルク供給部門であるSAFCは、ドイツHamburgにオリゴ合成用試薬製造工場を所有しており、Proligo Reagents™ブランドとして世界中のオリゴハウスに供給しています。また、SAFCでは、AKTA Oligo Pilot専用試薬も製造・販売しており、同装置に直接接続のできる高品質な合成試薬を供給しています。今回は、同装置のユーザーをサポートするこれらの専用試薬についても併せてご紹介させていただきます。