

高機能性人工核酸 BNA の開発と応用展開



企業レポート

今西 武*

Development and Application of Highly Functional Nucleic Acid
Analogues, BNAs

Key Words : nucleic acid, BNA, LNA, therapeutic oligonucleotide, diagnostics

はじめに

ヒトゲノム計画が一段落してからはや10年になるろうとしている。欧米では、20年ほど前から、ゲノム配列情報を基にした医薬品や診断薬を開発する研究が活発に展開されてきている。その一方で我が国においては、この分野の取り組みが随分と遅れてしまったようだが、このところ漸く、低分子化合物、抗体医薬に続く新しい医薬開発材料として「核酸」への注目度が高まってきた。「低分子医薬」「抗体医薬」と比較して「核酸医薬」には多くのメリットがあると考えられている(表1)。

「核酸医薬」を開発する手法としては、アンチセンス法やデコイ法、アンチセンス法、RNA干渉法(RNAi法)などのようにゲノムDNA、メッセンジャーRNA、マイクロRNAを分子標的とする「ゲノムテクノロジー」のほか、タンパク質を対象としたDNAあるいはRNAアプタマー法などが考えられている(図1、2)。

「核酸医薬」の核酸材料としてのオリゴヌクレオチドにはさまざまな機能が求められるが、(1)標的となる一本鎖RNAあるいは二重鎖DNAに対して塩基配列特異的に強く結合してそれぞれ安定な二重鎖、三重鎖核酸構造が形成できる、(2)核酸分解酵素に強く抵抗すること、が最も重要である。天然DNA、RNAのオリゴヌクレオチドは、生体

内で速やかにさまざまな核酸分解酵素によって壊され、また結合能力にもやや難があるので「核酸医薬」の材料としては一般的に不向きである。そのため、核酸医薬の素材として相応しい「人工核酸」を見出す研究が世界中で活発に展開され、膨大な数の人工核酸が開発されてきた。PS-オリゴ、ペプチド核酸(PNA)、モルホリノオリゴ、2 θ -置換RNAなどは、核酸医薬素材として有用視されている。

より優れた人工核酸の開発を目指し、天然核酸の糖部分の立体的な揺らぎの自由度を架橋構造化によって強く束縛した新しいタイプの人工核酸、BNA(Bridged Nucleic Acid)類、をこれまでに数多く開発してきた。すなわち、A型らせん(RNA-RNA二重鎖の構造形態)中の糖部構造と同じ立体配座に固定化したN型BNA類ならびにB型らせん(DNA-DNA二重鎖の典型的な形態)中の糖部構造と同じ立体配座様に強く束縛したS型BNA類である(図3)。

各種のBNAモノマーユニットは核酸自動合成機上で天然DNAあるいはRNAオリゴヌクレオチド中の望みの箇所(一部から全部)に導入することが可能で、多様なBNA修飾オリゴヌクレオチド(BNAオリゴ)を容易に調整(合成)できる。これらのBNAオリゴには天然オリゴにはない優れた特性が備わっている。特に、N型BNAオリゴは相補鎖RNAに対して非常に強く結合し安定な二重鎖を形成する特性を有し、さらに、二重鎖DNAに対する三重鎖形成能にも優れていることが判明している。また、核酸分解酵素に強く抵抗する性質も備わっている(表2)。

このようにN型BNAオリゴが獲得した種々の特性は、病原遺伝子群を標的とする「核酸医薬」の基盤材料としてのポテンシャルの高さを示唆している。また、「個の医療」「診断と治療との一体化」が進め



*Takeshi IMANISHI

1944年11月生
大阪大学大学院・薬学研究科・博士後期課程(1972年)
現在、株式会社BNA 代表取締役 大阪大学名誉教授 薬学博士 生物有機化学、合成化学、核酸化学
TEL: 072-646-7037
FAX: 072-646-5763
E-mail: imanishi@bna.jp

表1. 低分子化合物、抗体医薬および核酸医薬の比較

項目	低分子化合物	抗体医薬	核酸医薬
分子量	500程度	150,000程度	5,000 ~ 15,000
ターゲット分子	細胞膜上分子の一部	細胞膜上分子の大部分	細胞内分子 (一部は細胞膜上分子)
ターゲット分子数	5,000 ~ 7,000	100 ~ 300	数1,000以上
ターゲット特異性	比較的低い	高い	非常に高い
開発期間	長い	比較的短い	短いと予想
開発成功率	15%程度	45%程度	高確率が期待
製造コスト	低コスト	高コスト	比較的低コスト
薬剤耐性 / 抵抗性	ターゲット分子変異で 耐性発生	中和抗体の発生	低いと予想
開発主体	製薬企業	ベンチャー / 製薬企業	ベンチャー企業

平成17年度先導調査委託事業「機能性核酸の医薬品への応用を目指した市場及び技術に関する調査」調査委託成果報告書より引用。

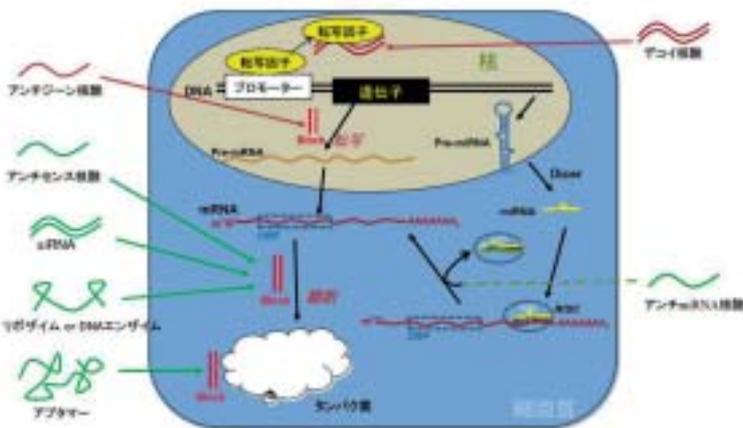


図1. ゲノムテクノロジー

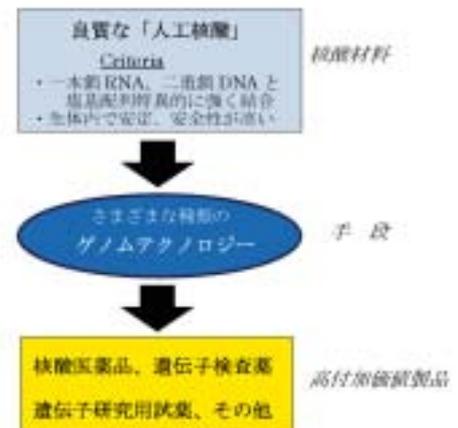


図2. 「核酸材料」から「高付加価値製品化」への流れ

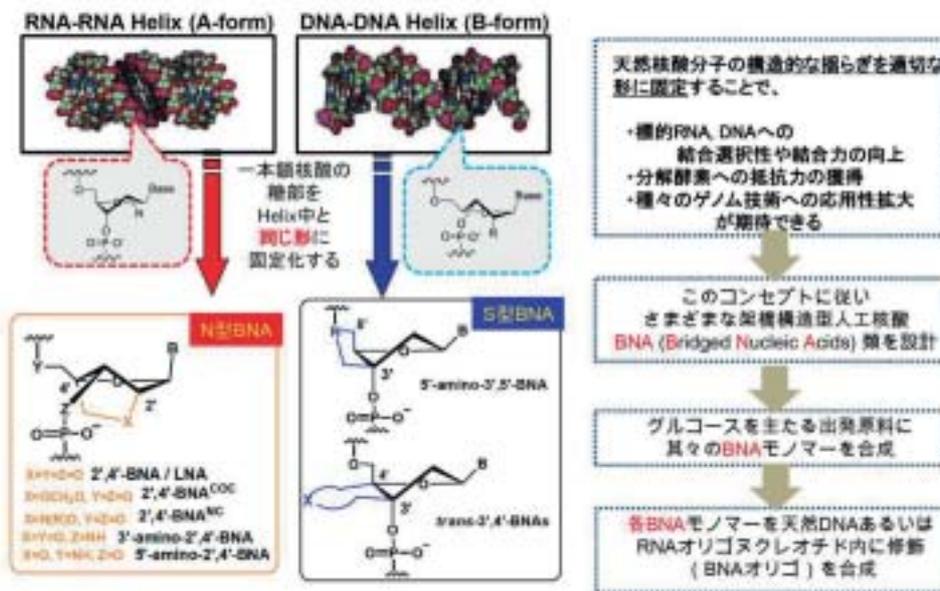
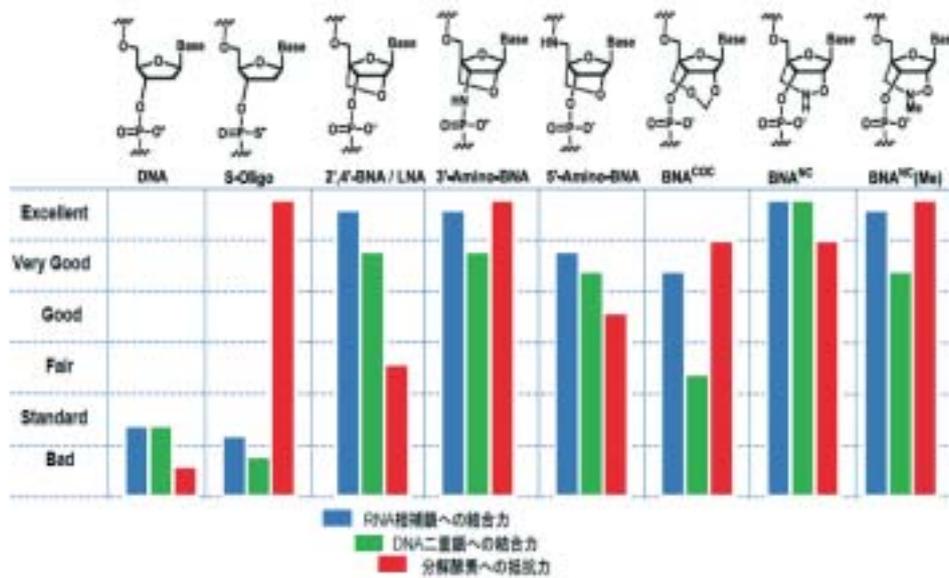


図3. 架橋構造型人工核酸 BNA 類の開発コンセプトと実践

表2 . N型BNAオリゴの特性表



られている中で、「遺伝子検査診断」や「遺伝子機能研究」用素材としての重要性も高いといえる。

実際、各種のN型BNAはアンチセンス法、アンチジーン法、RNA干渉法 (siRNA) への適応性に優れていることが特定遺伝子を対象とした培養細胞系での評価研究であきらかになっている。また、第一世代N型BNAの2',4'-BNAは、「LNA」名で市場にあり、各種核酸医薬や遺伝子診断薬、遺伝子研究用試薬の基盤素材として世界中で広く活用されてきている。

株式会社BNAの設立経緯

前述のBNA開発と予備的な機能評価研究は、筆者らが大阪大学薬学研究科において各種の科研費、創薬等ヒューマンサイエンス総合研究、大阪北部 (彩都) 地区知的クラスター実用化研究、地域新生コンソーシアム研究開発、大学発ベンチャー創出推進、分子イメージングプログラム個別研究事業などの公的資金支援を受けつつ得てきた成果である。これらの中で「大学発ベンチャー創出推進事業」は、大学における学術的な研究を単に支援するだけの目的ではなく、大学で培った基礎的かつ応用実用化が見込める技術シーズを基にして社会的ニーズに沿った応用研究を推進して実践実用的な技術シーズに発展させて「大学発ベンチャーの起業化」を推進することを目標とした事業である。筆者は「人工核酸BNAを用いた簡便・迅速・高精度遺伝子検査診断システ

ムの開発」という課題名で、平成17 - 19年度の3年間当該事業研究を推進してベンチャー起業化を準備し、大学教員を定年退職した平成20年の5月に人工核酸BNAの開発関連の技術シーズを基にして「株式会社BNA」を大阪市に設立した。当初はウエットラボのない状態であったが、同年10月になって茨木市彩都地区に新しいインキュベーション施設「彩都バイオノベーションセンター」が竣工したのを機に、その1室 (約70mm²) に移転して細々と研究開発部門をスタートさせた (平成22年12月に同センター内で再移転・施設拡充して2室で活動中)。株式会社BNAの概要は下記の通りである。

株式会社BNAの概要

- 1) 設立日：平成20年5月12日
- 2) 所在地：大阪府茨木市彩都あさぎ
7丁目7番地20号
(彩都バイオノベーションセンター内)
- 3) 資本金：1000万円
- 4) 役員：代表取締役 今西 武、
取締役 田村 格
- 5) 従業員：5名 (役員を除く) [研究員3名]
- 6) 事業内容：スーパー人工核酸BNAに関する下記の事業
 - (1) 核酸医薬品の開発研究
 - (2) 遺伝子検査診断技術開発
 - (3) 各種BNAユニット (アミダイト) の製造と販売

- (4) BNA関連特許の管理・使用実施権の技術移転
- (5) その他のBNA関連事業

事業活動の現状と将来展望

当社の技術シーズである「スーパー機能性人工核酸BNA」は、各種ゲノムテクノロジーの基盤材料として有望な化学物質であるため、欧米で先行し日本でもようやく注目されてきた「核酸医薬」ならびに「遺伝子診断薬」開発の高機能分子素子として需要・用途拡大が大いに期待できるようになった。企業（ベンチャー）にとって、単に「期待できる」というポテンシャルだけではなく、「実用化」に結びつけていくことが大切である。大学での「先導性・先進性・独創性」を重視した研究スタンスだけでは企業での研究は成り立たない。そのため、BNAを応用製品化するための第一歩として、BNAオリゴの合成素子（building block）となるモノマーユニットのBNAアミダイト類の製造と販売供給に力点を置いた。小企業にとっては人件費・施設費など日常経費の自己負担の比重が大変重く、実用実践型の研究活動が中心とならざるを得ない。従って、核酸医薬や遺伝子診断用として利活用されうるBNAオリゴを実際に利用してもらうため、BNAアミダイト類を安定的に低コストで製造でき、リーズナブルな価格で供給できる技術改革が不可欠となる。既に先行して流通している人工核酸類（PNA、LNA、モルホリノDNAなど）の機能性と価格面とのバランス関係で、BNAが如何に高機能性であっても「価格面」で妥当性を欠くほど「高価格」とあれば試しにも使用してもらえず普及につながらないことになってしまう。極端な場合には「合成できさえすればよい」という大学の研究では合成・製造コストを余り気にせず過ぎてこれたが、今更ながら「モノづくりの本質」に大きな違いがあることを思い知らされている。

各種BNAオリゴは、グルコースを主原料として多段階の反応工程を経てそれぞれのBNAモノマー、BNAアミダイトを合成し、それを核酸自動合成機中でDNAあるいはRNAオリゴ中にBNAユニットを部分的に修飾したハイブリッドオリゴとして調製する（図3）。このすべての過程を当社で行うの

ではなく、モノマー合成における初期段階でのルーチン化された過程およびアミダイトユニットからBNAオリゴを調整する過程は、効率性を重視してそれぞれ専門企業に外注もしくは委託している。特に、BNAオリゴの調整および販売は設備・ノウハウ・供給システム等の観点から「株式会社ジーンデザイン」に委託している。当社ではBNA合成中間体からBNAアミダイトを合成し供給する過程を担っており、既存の合成経路の短縮化・操作の簡便化およびバッチ反応の大量化などで製造の低コスト化に取り組んでいる。現在、数種のBNAアミダイトを供給・販売しているが、今後は供給できるBNAアミダイトの種類および量の拡大も進めていく予定にしている（写真）。



彩都バイオイノベーションセンター



BNAアミダイト製品



株式会社BNA合成化学研究室



株式会社BNA 生化学研究室

「BNAアミダイトやオリゴは供給するが、応用製品化への道筋はそちらでしてください」とばかりではBNAの需要拡大につながらない。BNAの基本的な特性データだけではなく、それが製品化にどのように結びつくかを示す応用データまで求められることが多々ある。そのため、一部にBNAオリゴの応用実用化に向けた取り組みも独自に進めている。幸いなことに、JST(科学技術振興機構)の平成21年度第2期「A-STEP実用化挑戦タイプ(中小・ベンチャー開発/創薬開発)」事業として「人工核酸BNAの活用による癌遺伝子変異の高感度検出技術」課題が採択され、平成22年7月から5年間(予定)のプロジェクトとしてスタートした。これにより、遺伝子検査薬開発の一環として癌関連遺伝子の変異の有無を高感度で検出する技術の確立と製品化を目指す研究開発を進めている。なお、BNAの核酸医薬への応用化の取り組みに関しては、医薬品化までの期間の長さ・さまざまな開発や認可のノウハウ・膨大な開発費用の面等で当社のような体力の乏しいベンチャー企業が率先して推進する環境には残念ながら至っていないと思われる(欧米では「核酸医薬」開発主体はベンチャー企業が担ってい

る場合が多い・・・)。そのため、体力・資金・人材・ノウハウのある既存の製薬メーカーに技術移転するなどにより核酸医薬品開発に結びつける方針とせざるを得ないと考えている。

おわりに

一般的には、バイオベンチャー企業の多くは、IT産業などとは異なり、利潤を生むべき「技術シーズ」から「高付加価値製品化」に至るまでの道のりは遠く険しく不透明性も高いため、そこに到達するまでをどう乗り切っていくかが大変大きな課題であると思われる。新興で資金的なゆとりがないベンチャー企業にとって、研究開発・事業活動を進めていく上で外部からの経済的な支援が欠かせない。バイオ関連ベンチャーは、いわゆる「エンジェル」資金を利用することが余り期待できない現状にあって、資金確保の手段は限られている。当社は、起業して2年半の間、いくつかの公的機関から開発研究の資金的支援を受ける幸運に恵まれ、また、自治体からも種々の支援を、更には大学からもいろんな便宜供与を受けられることができ、何とか大過なく無難に、徐々に開発研究の環境整備をしながら何とか大過なく今日に至っている。40年余りを専ら大学で過ごし、会社組織での経験も一切ないまま、無謀にも(?)ベンチャー企業を設立できたのは、これまで多くの知人・友人からいただいた多大なご教示、ご協力、ご支援のお蔭であると痛感し感謝している。生まれるよりも消える数のほうが多いといわれている「日本の大学発ベンチャー企業」にとって、決して将来性豊かな明るい環境にあるとは言えないが、大学で育ててきた基盤的な技術シーズを磨いて「高付加価値製品」に繋げ社会還元していきたいとの強い思いでいる。

