

厚生労働科学研究委託費

肝炎等克服実用化研究事業

B型肝炎ウイルス感染を抑制可能な高機能型核酸医薬品の開発
平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 山本 剛史（大阪大学大学院薬学研究科）

平成27（2015）年 3月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託事業による委託業務として、山本 剛史が実施した平成26年度「厚生労働科学研究委託事業（B型肝炎ウイルス感染を抑制可能な高機能型核酸医薬品の開発）」の成果を取りまとめたものです。

目 次

I . 委託業務成果報告（総括）

- B型肝炎ウイルス感染を抑制可能な高機能型核酸医薬品の開発に関する研究
（HBVを標的としたアンチセンス核酸の設計・合成・機能評価）----- 1
山本 剛史

II . 委託業務成果報告（業務項目）

- HBV ゲノム発現プラスミドおよびアデノウイルスベクターを用いた HBV 感染
モデルマウスの作製に関する研究 ----- 6
櫻井 文教

III . 刊行物に関する一覧表 ----- 12

厚生労働科学研究委託費（肝炎等克服実用化研究事業）

委託業務成果報告（総括）

B型肝炎ウイルス感染を抑制可能な高機能型核酸医薬品の開発に関する研究

（HBV を標的としたアンチセンス核酸の設計・合成・機能評価）

担当責任者 山本 剛史 （大阪大学大学院薬学研究科・助教）

研究要旨

B型肝炎ウイルス（Hepatitis B Virus; HBV）の感染を原因とするB型肝炎は、我が国に約150万人のHBV感染者が存在すること、その一部は肝硬変や肝臓に進行することから、大きな問題となっている。現在、B型肝炎治療薬としてはインターフェロン（IFN）や核酸アナログが使用されているが、種々の問題から画期的抗HBV薬の開発が期待される。アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）は、10～20塩基長の化学合成オリゴヌクレオチドであり、相補的な配列を有する標的遺伝子mRNAに結合することで、その発現を高効率に阻害すること、肝臓に効率良く集積することなどから、肝疾患に対する医薬品として適しており、実際にC型肝炎、高コレステロール血症などに対する医薬品として承認・新規開発が進んでいる。本研究では、ASOを用いてHBVの感染抑制を試みた。

研究協力者

櫻井 文教 大阪大学大学院薬学研究科 准教授

小比賀 聡 大阪大学大学院薬学研究科 教授

水口 裕之 大阪大学大学院薬学研究科 教授

立花 雅史 大阪大学大学院薬学研究科助教

山本 達郎 大阪大学大学院薬学研究科大学院生

田中 靖人 名古屋市立大学大学院

医学研究科教授

脇田 隆字 国立感染症研究所ウイルス第2部 部長

渡土 幸一 国立感染症研究所ウイルス第2部 主任研究官

A. 研究目的

B型肝炎ウイルス（Hepatitis B Virus; HBV）の感染を原因とするB型肝炎は、国内に約150万人のHBV感染者が存在すること、その一部は肝硬変や肝臓に進行することから、大きな

問題となっている。現在、B型肝炎治療薬としてはインターフェロン(IFN)や核酸アナログが使用されているが、種々の問題から画期的抗HBV薬の開発が期待される。アンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)は、10~20塩基長の化学合成オリゴヌクレオチドであり、相補的な配列を有する標的遺伝子mRNAに結合することで、その発現を高効率に阻害すること、肝臓に効率良く集積することなどから、肝疾患に対する医薬品として期待されている。実際に、PSCK9に対するASOは家族性高コレステロール血症治療薬として承認・販売されており、C型肝炎ウイルスの増殖に必須のmiR-122aのASOは、C型肝炎治療薬として臨床開発が進められている。そこで本研究では、HBV感染を抑制可能なASOの開発を試みた。

B. 研究方法

B.1. HBx 遺伝子に対する ASO

(ASO-HBx)の設計

HBV・HBx 遺伝子において各 Genotype に保存されている領域に対し、449種の候補標的領域から選抜した16種のASOを化学合成した。それらのASOには、標的に対する親和性の向上ならびに分解に対する耐性の向上を目的に、種々の化学修飾を施した。

B.2. ASO-HBx による HBV 感染抑制

Genotype DのHBV粒子を恒常的に産生するHepG2.2.15.7細胞に対しASO-HBxを終濃度100 nMでLipofectamine2000を用いてTransfectionした。Transfection72時間後、細胞内のRNAを回収し、HBx mRNA量を定量的RT-PCRにより定量した。さらに培養上清中のHBVゲノム量を定量的PCRにより検討した。

B.3. ASO-HBx による細胞毒性の評価

HepG2.2.15.7細胞にASO-HBxを上記B.2.と同様に導入した。72時間後、培養上清中のLactate dehydrogenase(LDH)活性をLDH-細胞毒性テストワコー(和光純薬)を用いて評価した。

(倫理面への配慮)

該当事項無し。

C. 研究成果

C.1. HBx 遺伝子に対する ASO の設計

本研究では、標的遺伝子としてHBx遺伝子を選択した。HBVゲノムは4つの遺伝子(HBx, Core, Pol, S)から構成されている。HBx遺伝子産物は、HBVの複製、Reactive Oxygen Species(ROS)の産生など多くの機能を有しており、HBx遺伝子の発現を抑制することでHBVの感染を大きく抑制可能であることが報告されている(Shin et al., Virus Res., 2006)。設計にあたっては、HBx遺伝子のGenotype A-D間で共通の配列領域について設計した。共通

配列より 449 種の候補を生成し、既知の免疫惹起モチーフ (CpG モチーフ)・自己高次構造配列 (GGGG モチーフなど) を有するモノの排除、さらに結合力や配列相同性のパラメータを考慮し、活性アンチセンス核酸を選抜する独自アルゴリズムを用いて 16 種選択した。これら 16 種について BNA を搭載したアンチセンス核酸を化学合成した。

C.2. ASO-HBx による HBV 感染抑制

次に設計・合成した ASO-HBx を Hep2.2.15.7 細胞に Transfection し、HBV 感染抑制能について検討した。その結果、2 つの ASO において HBx mRNA 量が 60% 以下に抑制された。さらに培養上清中の HBV ゲノム量についても、50% 以下に抑制された。また、Genotype D 以外の Genotype についても HBx mRNA 抑制効果を検討したところ、Genotype D のみならず、Genotype A-C の HBV において HBx mRNA 量を 40% 以下に抑制することに成功した。以上の結果より、ASO を用いて HBV の感染を抑制可能であることが示された。

C.3. ASO-HBx による細胞毒性の評価

さらに、ASO-HB の細胞毒性について検討するために、ASO-HBx を Hep2.2.15.7 細胞に Transfection し、培養上清中の LDH 活性を測定した。その結果、上記 C.2 の検討において HBV 感染抑制効果を示した ASO では、未処理群と比較し有意な細胞毒性は観察

されなかった。従って、細胞毒性によって HBV 感染が抑制されたのではないことが示唆されるとともに、ASO が高い安全性を有することが示唆された。

D. 考察

近年、ASO は次世代の革新的医薬品として大きな期待を集めている。ASO は、キャリアーを必要とせずに単体の状態で肝臓に送達可能であること、化学的に大量合成可能であること、核酸に化学修飾を施すことによって安定性や組織移行性を付与することが可能であるなどの特長を有している。既に米国においては ApoB に対する ASO が家族性高コレステロール血症に対する治療薬として承認を受けている。また miR-122a に対する ASO が C 型肝炎治療薬として Phase IIa に進んでいる。本研究では HBV 感染を抑制することを目的に、HBx 遺伝子に対する ASO を設計し、その抑制効率を検討した。HBV は 4 つの遺伝子から構成されており、今回標的とした HBx 遺伝子以外にも S 遺伝子や pol 遺伝子を標的として siRNA を用いて感染抑制が見られることが報告されている。しかしながら、HBx 遺伝子産物は種々のメカニズムを介して HBV の感染ならびに症状の発症に関与しており、本遺伝子をノックダウンすることで高い HBV 感染ならびに

発症の抑制が得られると考えた。今後は更に多くの ASO を用いてスクリーニングを行うとともに、in vivo における HBV 感染抑制を試みる。

E. 結論

- HBx 遺伝子を標的とした ASO を設計するとともに、本 ASO を用いて HBV 感染を抑制可能であった。
- HBV 感染抑制を示した ASO は、細胞毒性を示さず高い安全性を有することが示された。

F. 健康危険情報

該当事項無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

Yamamoto, T., Yahara, A., Waki, R., Yasuhara, H., Wada, F., Harada-Shiba, M. and Obika, S. (2015) Amido-bridged nucleic acids with small hydrophobic residues enhance hepatic tropism of antisense oligonucleotides in vivo. *Org Biomol Chem*.
Mitsuoka, Y., Fujimura, Y., Waki, R., Kugimiya, A., Yamamoto, T., Hari, Y. and Obika, S. (2014) Sulfonamide-Bridged Nucleic Acid: Synthesis, High RNA Selective Hybridization,

and High Nuclease Resistance. *Org. Lett.*, **16**, 5640-5643.
Yamamoto, T., Fujii, N., Yasuhara, H., Wada, S., Wada, F., Shigesada, N., Harada-Shiba, M. and Obika, S. (2014) Evaluation of multiple-turnover capability of locked nucleic acid antisense oligonucleotides in cell-free RNase H-mediated antisense reaction and in mice. *Nucleic Acid Ther*, **24**, 283-290.

2. 学会発表

櫻井文教、山本剛史、森大輔、山本達郎、渡士幸一、脇田隆字、飯島沙幸、田中靖人、立花雅史、小比賀聡、水口裕之。2',4'-BNA/LNA 導入型アンチセンスオリゴヌクレオチドによる B 型肝炎ウイルスの感染抑制。2014 年 9 月 8-9 日 第 24 回アンチセンスシンポジウム
山本剛史、藤井奈緒子、安原秀典、斯波真理子、小比賀聡、アンチセンス核酸の mRNA 切断反応における効率的回転に関する検討、2014 年 9 月 8-9 日、第 24 回アンチセンスシンポジウム
堀真一郎、山本剛史、小比賀聡、アンチセンス核酸の簡便な in vitro 活性向上法、2014 年 9 月 8-9

日、第 24 回アンチセンスシンポジウム

Tsuyoshi Yamamoto, Naoko Fujii, Hidenori Yasuhara, Shunsuke Wada, Fumito Wada, Naoya Shigesada, Mariko Harada-Shiba and Satoshi Obika, Turnover Capability of BNA Antisense Oligonucleotides under Excess RNase H conditions and in Mice, 2014.10.11-16, 10th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutic Society.

Shin-ichiro Hori, Tsuyoshi Yamamoto, Reiko Waki, Satoshi Obika, Simple addition of calcium chloride to media enhances the effect of various naked oligonucleotides, 2014.10.11-16, 10th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutic Society.

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当事項無し。

厚生労働科学研究委託費（肝炎等克服実用化研究事業）

委託業務成果報告（総括）

HBV ゲノム発現プラスミドおよびアデノウイルスベクターを用いた HBV 感染
モデルマウスの作製に関する研究

担当責任者 櫻井 文教 （大阪大学大学院薬学研究科・准教授）

研究要旨

B型肝炎ウイルス（Hepatitis B Virus; HBV）の感染を原因とする B型肝炎は、我が国において緊急に克服すべき課題となっている。HBV の生活環の解明や抗 HBV 薬の創成、および B型肝炎発症機構に向けては、HBV 感染モデルマウスの開発が必要不可欠である。これまで HBV 感染モデルマウスとしては、ヒト肝臓キメラマウス、もしくはプラスミドやアデノウイルスベクターを用いて HBV ゲノムを肝臓に導入したマウスが用いられてきた。しかし、ヒト肝臓キメラマウスは重度の免疫不全のために HBV 感染による免疫応答が評価できない。また HBV ゲノムを肝臓に導入したマウスでは、HBV ゲノムの発現が一過性であり、慢性感染状態を再現できない。そこで本研究では新生児マウスに HBV ゲノムをアデノウイルス（Ad）ベクターを用いて導入することにより、HBV 慢性感染モデルマウスの作製を試みる。まず本年度は HBV ゲノム搭載 Ad ベクターを作製するとともに、新生児マウスにおける遺伝子導入特性を検討した。

研究協力者	田中 靖人	名古屋市立大学大学院 医学研究科教授	
水口 裕之	大阪大学大学院薬学研 究科教授	脇田 隆字	国立感染症研究所ウイ ルス第2部 部長
立花 雅史	大阪大学大学院薬学研 究科助教	渡土 幸一	国立感染症研究所ウイ ルス第2部 主任研究官
山本 達郎	大阪大学大学院薬学研 究科大学院生		
飯塚 俊輔	大阪大学大学院薬学研 究科大学院生	A. 研究目的	B型肝炎ウイルス（Hepatitis B

Virus; HBV) の感染を原因とする B 型肝炎は、我が国において非常に多くの患者を有すること、核酸アナログ製剤などが開発されているが、薬剤耐性ウイルスの出現などの問題を有することなどから、革新的な治療薬の開発が求められている。B 型肝炎の主要な症状に、免疫応答を主因とする強い肝障害が挙げられる。従って新規 B 型肝炎治療薬の創成に向けては、HBV に対する免疫応答も加味した HBV 感染モデル動物が必要不可欠である。これまで HBV 感染モデル動物としては、ヒト肝臓キメラマウスが用いられてきた。ヒト肝臓キメラマウスは、肝細胞のほとんどがヒト肝細胞に置き換わったマウスである。ヒト肝臓キメラマウスでは効率よく HBV が感染するが、極めて高価であること、重度の免疫不全マウスであるため免疫応答を評価できないといった問題点を有する。また、野生型マウスに Ad ベクターやプラスミドを用いて HBV ゲノムを導入し発現させることも可能であるが(マウス肝細胞では HBV 粒子は感染できないが、HBV ゲノムを導入することで感染性の HBV 粒子が産生される)、この場合、肝細胞中の HBV ゲノム量が急速に減少していくため、一過性の HBV 感染しか模倣できない。そこで本研究では、免疫機構が成熟化していない新生仔マウス

に Ad ベクターを用いて HBV ゲノムを導入することを試みることにした。本年度は、HBV ゲノム搭載 Ad ベクターを作製するとともに、新生仔マウスにおける Ad ベクターの遺伝子導入特性を評価した。

B. 研究方法

B.1. HBV ゲノム搭載 Ad ベクターの開発

Genotype A-C の HBV ゲノムを非増殖型 Ad ベクターゲノムの E1 欠損領域に挿入した。Genotype A-C の HBV ゲノムは、田中靖人教授(名古屋市立大学大学院医学研究科)よりご供与いただいた。また遺伝子導入効率を補正することを目的に、Cytomegalovirus (CMV) プロモーターによってドライブされる Gaussia Luciferase (gLuc) 発現カセットを HBV ゲノムの下流に挿入した (Figure 1)。Ad ベクターの調製は、improved in vitro ligation 法を用いて調製した。

B.2. HBV ゲノム搭載 Ad ベクターによる各種培養細胞への HBV ゲノム導入

上記 B. 2 で作製した Ad ベクターをヒト肝癌細胞株 HepG2 細胞に 300 vector particle (VP)/cell もしくは 3000 VP/cell で作用させた。Ad ベクター作用 72 時間後、培養上清中の HBV

ゲノム量を定量的 PCR により、HBV 抗原量 (HBs 抗原、HBcr 抗原) を化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA 法) を用いて測定した。また培養上清中の gLuc 活性については、Gaussia Luciferase assay kit (New England Biolabs) を用いて行った。

B.3. Ad ベクターを用いた新生仔マウスへの遺伝子導入と遺伝子発現解析

CMV プロモーターによってホタルルシフェラーゼを発現する発現カセットを搭載した Ad ベクター (Ad-L2) を、生後 2 日のマウスに対し、眼窩静脈叢より全身投与した。投与より 2 日後、各臓器を回収し、ホモジネートを調製した。遠心後、上清のルシフェラーゼ活性を測定することで、遺伝子発現効率を評価した。また、経日的に血液を回収し、肝障害マーカーである血清中の Alanine aminotransferase (ALT) および Aspartate aminotransferase (AST) 値を測定することで、Ad ベクター投与による肝障害を評価した。

(倫理面への配慮)

該当事項無し。

C. 研究成果

C.1. HBV ゲノム搭載 Ad ベクターの開発

マウス肝臓に高効率に HBV ゲノムを導入することを目的に、非増殖型 Ad ベクターに HBV ゲノムを搭載した。さらに、遺伝子導入効率を補正することを目的に gLuc 発現カセットを挿入した。gLuc は分泌型ルシフェラーゼであることから、培養上清もしくは血液中の gLuc 活性をそのまま測定することが可能である。本 Ad ベクターは、従来の Ad ベクター作製法により効率よく調製することが可能であった。

C.2. HBV ゲノム搭載 Ad ベクターによる各種培養細胞への HBV ゲノム導入

次に作製した Ad ベクターが HBV 粒子産生能を有するか検討するために、ヒト肝癌細胞株である HepG2 細胞に HBV ゲノム搭載 Ad ベクターを作用させ、培養上清中の HBV ゲノム量ならびに HBV 抗原量を定量した。これまでに HepG2 細胞は、HBV ゲノム搭載プラスミドを Transfection することにより HBV 粒子が産生されることが多く報告されている。HepG2 細胞に HBV ゲノム搭載 Ad ベクターを作用させたところ、Ad ベクター量依存的に培養上清中に HBV ゲノムが検出された。さらに、HBs 抗原ならびに HBcr 抗原が検出された。本結果より、作製した HBV 搭載 Ad ベクターを肝細胞に作用させることに

よりHBV粒子が産生されることが示唆された。

C.3. Adベクターを用いた新生仔マウスへの遺伝子導入と遺伝子発現解析

新生仔マウスへのHBVゲノム搭載Adベクター投与に先立ち、ルシフェラーゼ発現Adベクターを用いて新生仔マウスにおけるAdベクターの遺伝子導入特性について検討した。生後2日の新生仔マウスの眼窩静脈叢より投与したところ、肝臓において最も高い発現が見られた。しかし、成体マウスと比較するとその発現量は低く、肝臓の次に高い遺伝子発現を示した心臓との差は、成体マウスでは約1500倍あったのに対し、新生仔マウスでは約30倍であった。また経日的にマウス肝臓におけるルシフェラーゼ活性を測定したところ、投与後徐々にルシフェラーゼ活性は減少していき、投与28日目にはほとんどバックグラウンドレベルにまで減少した。

次に肝障害マーカーである血清中のAST、ALT値を測定することにより新生仔マウスにおけるAdベクター投与後の肝障害について検討した。その結果、PBS投与群と比較し、有意なAST、ALT値の上昇は観察されなかった。以上の結果より、Adベクターを用いるこ

とで新生仔マウスの肝臓に高効率かつ安全に遺伝子導入可能であることが示された。

D. 考察

本研究ではHBV感染モデルマウスの作製に向けて、HBVゲノム搭載Adベクターを作製するとともに、新生仔マウスにおけるAdベクターの遺伝子導入特性を明らかにした。Adベクターは他のウイルスベクターと比較し高いタイトルが回収可能であることや比較的大きな遺伝子を搭載可能であることに加えて、静脈内投与後、肝臓に極めて高効率に遺伝子導入可能であることから、HBVゲノムをマウス肝臓に送達するのに極めて適したベクターであると言える。今回、HepG2細胞に本Adベクターを作用させたところ、培養上清中にHBVゲノムならびにHBV抗原が検出されたことから、HBV粒子が産生させているものと思われる。今後は新生仔マウスに全身投与することでHBV慢性感染モデルマウスの開発を試みる。

また本年度はHBV慢性感染モデルマウスの開発に先立ち、新生仔マウスにおけるAdベクターの遺伝子導入特性を検討した。新生仔マウスでは、獲得免疫が未発達のため、Adタンパク質に対する免疫応答が起こらずに遺伝子

発現が長期間にわたり得られるものと期待される。すなわち HBV ゲノムを長期間維持・発現することで、HBV 慢性感染モデルマウスが得られると考えた。新生仔マウスでは全身投与後、肝臓において高い遺伝子発現が得られたが、その効率は成体マウスと比較して低いものであった。実際に肝臓中の Ad ベクターゲノムコピー数を測定したところ、成体マウスと比較して低いものであった。新生仔マウスでは血管が未成熟なために、投与した Ad ベクターが血管から漏れ出て抹消組織に分布し肝臓への移行量が減ったものと思われる。

また肝臓における導入遺伝子の発現は、投与後徐々に減少していき、投与 28 日後には検出限界以下であった。この原因のひとつとしては、新生仔マウスの状態から成長するにつれて肝臓も大きくなったために、肝細胞あたりの Ad ベクターゲノム量も少なくなったためと思われる。しかし、Ad ベクターを用いて新生仔マウス肝臓に HBV ゲノムを導入した場合、HBV ゲノムはマウス肝細胞内で増殖することから、新生仔マウスに導入し肝臓が大きくなってもそれほど肝細胞あたりの HBV ゲノム量は減少しないものと予想される。

E. 結論

- HBV ゲノム搭載 Ad ベクターの作製に成功し、HepG2 細胞に作用させることにより、HBV 粒子を産生させることに成功した。
- 新生仔マウスに Ad ベクターを全身投与することにより、マウス肝臓に高効率に遺伝子を導入することに成功した。

F. 健康危険情報

該当事項無し。

G. 研究発表

G.1. 論文発表

該当事項無し。

G.2. 学会発表

- (1) 櫻井文教、山本剛史、森大輔、山本達郎、渡士幸一、脇田隆字、飯島沙幸、田中靖人、立花雅史、小比賀聡、水口裕之。2',4'-BNA/LNA 導入型アンチセンスオリゴヌクレオチドによる B 型肝炎ウイルスの感染抑制。2014 年 9 月 8-9 日 第 24 回アンチセンスシンポジウム
- (2) 飯塚俊輔、櫻井文教、清水かほり、立花雅史、水口裕之。アデノウイルスベクターの新生仔マウスにおける遺伝子発現特性の解析。2014 年 10 月 11 日 第 64 回日本

薬学会近畿支部総会・大会

- H. 知的財産権の出願・登録状況
該当事項無し。

1 . 論文発表

Yamamoto, T., Yahara, A., Waki, R., Yasuhara, H., Wada, F., Harada-Shiba, M. and Obika, S. (2015) Amido-bridged nucleic acids with small hydrophobic residues enhance hepatic tropism of antisense oligonucleotides in vivo. *Org Biomol Chem*.

Mitsuoka, Y., Fujimura, Y., Waki, R., Kugimiya, A., Yamamoto, T., Hari, Y. and Obika, S. (2014) Sulfonamide-Bridged Nucleic Acid: Synthesis, High RNA Selective Hybridization, and High Nuclease Resistance. *Org. Lett.*, **16**, 5640-5643.

Yamamoto, T., Fujii, N., Yasuhara, H., Wada, S., Wada, F., Shigesada, N., Harada-Shiba, M. and Obika, S. (2014) Evaluation of multiple-turnover capability of locked nucleic acid antisense oligonucleotides in cell-free RNase H-mediated antisense reaction and in mice. *Nucleic Acid Ther*, **24**, 283-290.

2 . 学会発表

櫻井文教、山本剛史、森大輔、山本達郎、渡士幸一、脇田隆字、飯島沙幸、田中靖人、立花雅史、小比賀聡、水口裕之。

2',4'-BNA/LNA 導入型アンチセンスオリゴヌクレオチドによる B 型肝炎ウイルスの感染抑制 . 2014 年 9 月 8-9 日 第 24 回アンチセンスシンポジウム

飯塚俊輔、櫻井文教、清水かほり、立花雅史、水口裕之. アデノウイルスベクターの新生仔マウスにおける遺伝子発現特性の解析 . 2014 年 10 月 11 日 第 64 回日本薬学会近畿支部総会・大会

山本剛史、藤井奈緒子、安原秀典、斯波真理子、小比賀聡、アンチセンス核酸の mRNA 切断反応における効率的回転に関する検討、2014 年 9 月 8-9 日、第 24 回アンチセンスシンポジウム

堀真一郎、山本剛史、小比賀聡、アンチセンス核酸の簡便な in vitro 活性向上法、2014 年 9 月 8-9 日、第 24 回アンチセンスシンポジウム

Tsuyoshi Yamamoto, Naoko Fujii, Hidenori Yasuhara, Shunsuke Wada, Fumito Wada, Naoya Shigesada, Mariko Harada-Shiba and Satoshi Obika, Turnover Capability of BNA Antisense Oligonucleotides under Excess RNase H conditions and in Mice, 2014.10.11-16, 10th Annual

Meeting of the Oligonucleotide
Therapeutic Society.

Shin-ichiro Hori, Tsuyoshi
Yamamoto, Reiko Waki, Satoshi
Obika, Simple addition of
calcium chloride to media
enhances the effect of various
naked oligonucleotides,
2014.10.11-16, 10th Annual
Meeting of the Oligonucleotide
Therapeutic Society.

3. 知的財産権の出願・登録状況
該当事項無し。