

# 核酸合成用試薬

## 2'-デオキシ BMEG アミダイトと固相合成用支持担体

deoxy Adenosine (N-PAC) 3'-O-BMEG phosphoramidite

deoxy Cytidine (N-tBPAC) 3'-O-BMEG phosphoramidite

deoxy Guanosine (N-tBPAC) 3'-O-BMEG phosphoramidite

Thymidine 3'-O-BMEG phosphoramidite

ChemGenesでは、BMEGで保護したアミダイトを各種取り揃えています<sup>1,2</sup>。このBMEGオリゴヌクレオチドは、細胞へのデリバリーのために用いられます。タンパク質や核酸、その他の生理活性物質などの生体分子の、細胞、組織、臓器への効果的なデリバリーは遺伝子治療や分子生物学では重要です。オリゴヌクレオチドを治療薬として用いるためには、活性な生体分子の有効量を標的の細胞または組織にデリバリーする必要がありますが、宿主に対しては免疫応答ならびに細胞毒性を最小限に抑えなくてはいけません。現在、負に電荷した生体分子のデリバリーには、ウイルスを用いる方法、非ウイルス性の方法があります。これらの方法には利点がありますが、細胞毒性などの欠点もあり、生体分子の効果的なデリバリーシステムが求められています。ChemGenesでは、BMEG(S-イソブタノイル 2-(2-メルカプトエトキシ)エトキシリル)アミダイト(図1)を販売しています。BEMG基は、効率的に細胞にデリバリーするための不可逆的なマスキングに機能します。

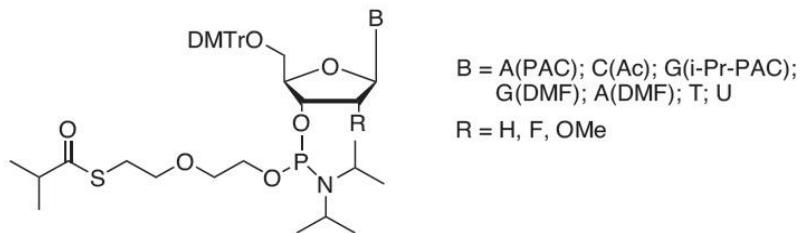


図1 BMEG デオキシ体、リボ体のアミダイトの構造

### BMEG基の利点

- BMEGチオエステルは、不安定な8員環遷移状態のため、熱力学的に安定です。
- チオエステルのイソプロピル基は化学的に安定です。
- *in vitro*においても*in vivo*においても、BMEG基の脂溶性が細胞膜を通過させるのに寄与しています。
- BMEG基は、核酸の負電荷を可逆的にマスクする働きをするため、BMEG修飾体を含むオリゴヌクレオチドは、同じ配列のRNAやDNAと比較すると、負の総電荷が少なくなります。
- これらの生体高分子は、全体的に負電荷が減少しているため、“Ribo-Nucleic Neutral (RNN)”と“Deoxyribo-Nucleic Neutral (DNN)”と呼ばれます。BMEGリボ酸保護基は、二本鎖の形成を阻害することはありません。

### 核酸合成

- BMEGアミダイトは、フェノキシアセチル (PAC), イソプロピルフェノキシアセチル(iPrPAC)、アセチル (Ac)、ジメチルホルムアミジン (DMF)基など、マイルドな条件で脱保護を行う保護基で保護されています。Q-サポートの固相支持担体やオキサリル固相支持担体などのマイルドな条件で脱保護を行う支持担体を使用することをお勧めします。
- 少なくとも5つのsiRNNのヌクレオチドが挿入された全長21ヌクレオシドのオリゴヌクレオチドの合成、単離、精製にも成功しています。
- BMEGを含むオリゴヌクレオチドは、生体内で不安定なため細胞内へのデリバリーでBMEG基は切断されます。その結果、生体分子が細胞内で機能できるように設計されています。(図2)

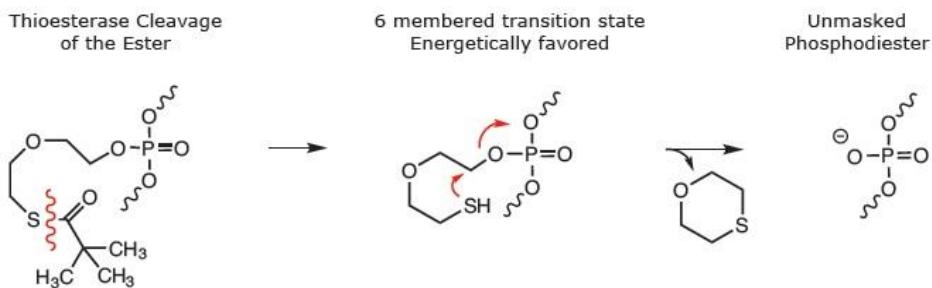


Figure 2: Schematic illustration of the cleavage mechanism of BMEG group inside a cell.

### BMEGオリゴヌクレオチドを用いたsiRNAテクノロジーへの応用

・図3は、5つのBMEGモノマーを含むsiRNN (BMEG 5N g2Mod/p2Mod15 nM)を用いた緑色蛍光タンパク質 (GFP)発現のノックダウンの結果を示しています。U2F 5N g2 Mod は、リン酸トリエステル保護基を持たないコンストラクトで、dGFPの発現を最大限に抑制するように設計されたポジティブコントロールのsiRNAです。この実験の結果では、5つのBMEGモノマーを含むsiRNNオリゴは、RISC複合体に移行して細胞内でポジティブコントロールの94%ほどのタンパク質発現を抑制したことを示しています。

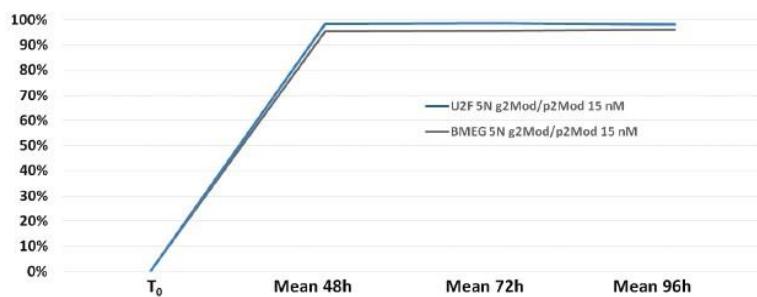


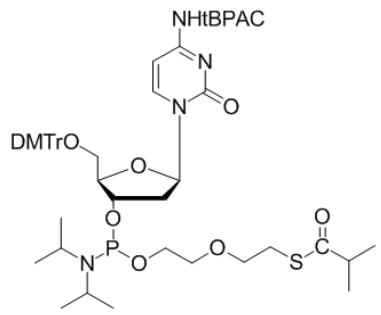
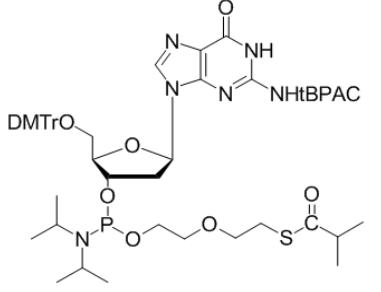
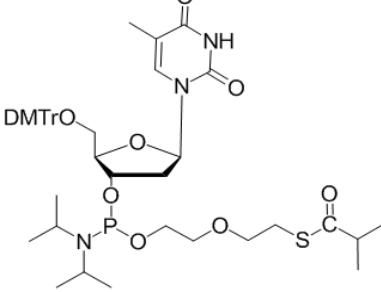
図3 siRNNを使用してGFP(緑色蛍光タンパク質) の発現をノックダウンした結果。48時間、72時間、96時間の経時変化で示している。

### References:

1. Petersen, S. G. Patent number WO 2010039543 A2 "Self delivering bio-labile phosphate protected pro-oligos for oligonucleotide based therapeutics and mediating RNA interference".
2. World wide exclusive license to ChemGenes Corporation, USA.

品名	商品コード	容量	概要	構造式
deoxy Adenosine (N-PAC) 3'-O-BMEG phosphoramidite	ANP-5611	1 g	FW 1009.16 輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	

★ 金額、規格外の容量をご希望の方はお問い合わせください。

品名	商品コード	容量	概要	構造式
deoxy Cytidine (N-tBPAC) 3'-O-BMEG phosphoramidite	ANP-5612	1 g	FW 1041.24 輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	
deoxy Guanosine (N-tBPAC) 3'-O-BMEG phosphoramidite	ANP-5613	1 g	FW 1081.26 輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	
Thymidine 3'-O-BMEG phosphoramidite	ANP-5614	1 g	FW 866.01 輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	

★ 金額、規格外の容量をご希望の方はお問い合わせください。