

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860116

研究課題名(和文) アンチセンス医薬品の実用化に向けたオフターゲット効果評価基盤の確立

研究課題名(英文) Evaluation of Off-target Effects of Antisense Oligonucleotides

## 研究代表者

吉田 徳幸 (Yoshida, Tokuyuki)

大阪大学・薬学研究科(研究院)・研究員

研究者番号：00649387

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、RNAを標的とする核酸医薬品(アンチセンス、siRNA等)に特有の「オフターゲット効果」に起因した副作用の発現に関して、評価法の確立および判断基準の設定することである。そこで本研究では、近年開発が最も進んでいる「Gapmer型アンチセンス」を対象とし、オフターゲット効果の評価に関する基盤研究を実施した。その結果、Gapmer型アンチセンスは確かにオフターゲット効果を誘導し、相補性が高いほど発現抑制を受ける遺伝子の割合が大きいこと、オフターゲット効果の有無をin silico解析から予測することは現時点では難しいことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：RNA targeting oligonucleotide therapeutics, such as antisense oligonucleotides (ASO), carry the risk of causing unintended toxicities or side effects. One of the potential toxicities is hybridization-dependent off-target effects which are caused by Watson and Crick base-pairing to unintended RNAs. It is assumed that improvements in potency and cellular delivery arising from chemically modified nucleic acids could increase the risk of hybridization-dependent toxicities. However, it is unclear how ASO affect the expression of unintended RNAs, for example, mRNAs which are partially complementary to the ASO. To reveal this point, we performed microarray analysis using a human cell line and several ASO with gapmer design having 2',4'-BNA. In this study, we reveal that the criteria for judgment of "off-target candidate genes" in in silico analysis, and the possible design of the methods for the evaluation of off-target effects of ASO.

研究分野：安全性学

キーワード：核酸医薬品 Gapmer型アンチセンス オフターゲット効果

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、抗体医薬に続く次世代医薬品として核酸医薬品が大きな注目を集めており、その中でも特に、RNA を標的とする核酸医薬品の1つであるアンチセンス医薬品の開発が目覚ましい進展をとげている。アンチセンスは、これまで血中での安定性や mRNA の抑制効果に問題があったが、LNA (Locked Nucleic Acid: リボ核酸の 2' 位の酸素と 4' 位の炭素を架橋してコンフォメーションを固定化した核酸) (引用文献①) に代表される人工核酸の開発により、体内安定性が高く、かつ強力な発現抑制作用を持つアンチセンスが創製されている。

(2) このように、アンチセンスの有効性は劇的に向上し、様々な新しいアンチセンスが開発されているが、安全性評価に関して基盤的研究はほとんど行われていない。アンチセンスによる毒性発現の機序には複数の経路が考えられるが、その代表例として RNA を標的とする核酸医薬品に特有の「ハイブリダイゼーション依存的オフターゲット効果」(以下、オフターゲット効果と表記) による毒性発現のリスクが挙げられる。すなわち、標的遺伝子と似た配列を有する RNA にアンチセンスが相補的に結合し、その発現を抑制したり、機能を阻害したりすることにより有害作用を引き起こす危険性である。オフターゲット効果は、①従来の低分子医薬品や抗体医薬品等の開発で得られた知見/経験が応用できず全く新規の課題であること、②安全性評価の課題でありながら動物を用いた試験では対応できないことから、その評価法の確立や判断基準の設定が喫緊の課題となっている。

(3) オフターゲット効果の発現機構は核酸医薬品の種類によって異なるため、評価手法も各核酸医薬品の特性に応じて個別に考察する必要がある。RNA を標的とする核酸医薬品はその作用機序から、「RNA を分解するタイプ」と「RNA に結合し、立体障害により作用するタイプ」の2つに分類することができる。前者に関しては、オフターゲット効果により標的外 RNA 鎖が分解されるリスクが考えられる。このタイプには、siRNA と Gapmer 型アンチセンスがあるが、siRNA についてはオフターゲット効果に関する研究が既に行われており、オフターゲット効果の起こる配列法則性や回避するための方法論が報告されている(引用文献②等)。一方、Gapmer 型アンチセンスについては、Kynamro®の承認に象徴されるように医薬品として上市可能なレベルにまで技術開発が進んでいるが、オフターゲット効果に関する解析はほとんど行われていない。後者の「RNA に結合し、立体障害により作用するタイプ」に関しては、スプライシング制御型アンチセンスと miRNA 阻害型アンチセンスの開発が進んでいるが、これらのアンチセンスに関してもオフターゲット効

果の検証はほとんど行われていない。

## 2. 研究の目的

(1) 以上の背景を踏まえ、本研究では現在最も上市可能なレベルにまで技術開発が進んでいる「Gapmer 型アンチセンス」に焦点を絞り、オフターゲット効果のリスクを予測/判断するために、Gapmer 型アンチセンスのオフターゲット効果に関する基盤研究を行うこととした。

(2) 具体的には、下記の点を検証した。

① Gapmer 型アンチセンスはオフターゲット効果を誘導しうるかどうかを検証し、オフターゲット効果が起こる際の配列法則性を明らかにする。

② 非臨床試験での種差の問題を解決するために、「ヒト化肝細胞キメラマウス」は有用な評価系となるか検証する。

## 3. 研究の方法

(1) オフターゲット効果の評価に用いる Gapmer 型アンチセンスの配列の決定

① オフターゲット効果の発現はアンチセンスの塩基長に大きく依存すると予想される。上述した Kynamro®は20塩基長であるが、修飾核酸技術の進展によりアンチセンスの塩基長が短くなる傾向にあり、現在では12-19塩基程度の Gapmer 型アンチセンスが中心的に開発されている。そこで本研究では、13、15、18塩基長の Gapmer 型アンチセンスについてオフターゲット効果の発現を検証することとした。アンチセンスの標的遺伝子(オンターゲット遺伝子)としては、発現抑制された際に内在遺伝子の発現に影響を与えないように、培養細胞に安定導入した外来遺伝子を標的とした。具体的には、eGFP (enhanced Green Fluorescent Protein) を安定発現する HEK293 細胞を用い、eGFP mRNA に対するアンチセンスを設計した。

② 本研究の目的はオフターゲット効果の検証であるため、選択するアンチセンスの条件としては、「できるだけ多くのヒト mRNA と相補結合し、かつ、高い eGFP mRNA 分解活性を有するもの」とした。これにより、オフターゲット効果の影響が観察されやすくなり、より多くのデータが抽出できると期待される。本解析では、Gapmer 型アンチセンスの Wing 領域に導入する修飾型核酸として、架橋型核酸 LNA を採用した。以降では、アンチセンスと相補性のある mRNA を「オフターゲット候補遺伝子」と呼ぶ。

③ まず、*in silico* 解析により、オフターゲット候補遺伝子の数を抽出することで、候補アンチセンスを絞り込んだ。*in silico* 解析には、ライフサイエンス統合データベースセンターの内藤らが2012年に開発した

新しい検索システムである「GGRNA」を用いた(引用文献③)。「GGRNA」は、NCBIが提供するヒト転写産物 Refseq のデータベースに対して検索が可能であり、その利点として、塩基配列の類似性を高速で検索することが可能、完全相補する配列だけでなく、部分的な不一致(ミスマッチ)を許容した検索が可能(version.1で対応可能)、十数塩基長の短い配列の検索に最適化されており漏れがないこと、が挙げられる。具体的には、eGFP mRNA に対して相補する13、15、18塩基長で考えられる全ての仮想アンチセンスを設計し(合計2117配列)、各アンチセンスが相補する配列についてGGRNAを用いてオフターゲット候補遺伝子を検索した。その際、ミスマッチの最大許容数を13塩基長アンチセンスは2、15・18塩基長アンチセンスは3とした。

④ 次に、オンターゲット効果の強度により候補アンチセンスを絞り込んだ。*in silico*解析で抽出したオフターゲット候補遺伝子の多いアンチセンス配列とオフターゲット候補遺伝子の少ないアンチセンス配列を合成し、eGFP mRNA 分解活性を調べた。合成の際のそれぞれのアンチセンスのデザインは1本鎖DNAの両端にLNAを配置した(13塩基長:LNA2-DNA8-LNA3、15塩基長:LNA4-DNA8-LNA3、18塩基長:LNA4-DNA10-LNA4)。各アンチセンスを最終濃度50 nMでeGFP安定発現HEK293細胞Lipofection法により導入した。24時間培養後total RNAを抽出し、quantitative real-time PCR(qRT-PCR)を行い、eGFP mRNA量を定量し、高いeGFP mRNA分解活性を有するものアンチセンスを選別した。

(2)ヒト肝細胞キメラマウスを用いた解析

① 近年、肝臓がヒト肝臓細胞に置き換わった「ヒト肝細胞キメラマウス」について研究が進んでおり、安定提供されるまでに技術進展している。このマウスを用いることで、ヒト肝臓における薬物の代謝/動態の予測がある程度可能であり、また、ヒト肝臓における代謝/動態の影響を加味した薬物の安全性評価についても一定の成果が期待される。そこで、アンチセンスのオフターゲット効果の評価におけるヒト肝細胞キメラマウスの有用性を検証することとした。

② 本研究では、ヒト肝細胞キメラマウスをしてPXBマウス(フェニックスバイオ社が作製・販売)を用いた。PXBマウスは、肝障害を誘発するuPA(ウロキナーゼタイププラスミノゲンアクチベータ)を発現するアリルと重度免疫不全状態となるSCIDのアリルを共にホモ接合体で有するマウスに、ヒト肝細胞を移植・生着させることで作製される。血中ヒトアルブミン濃度を測定することにより、ヒト肝細胞への置換率をモニターし、70%

以上が置換されたものを“PXBマウス”として使用する。

(3) オフターゲット効果の評価

① 上述した解析において抽出した配列に関してより広くオフターゲット候補遺伝子を抽出するために、GGRNAを独自に改変したアルゴリズムを用いて再解析を行った。ミスマッチの許容範囲を13塩基長アンチセンスは3、15塩基長アンチセンスでは4、18塩基長アンチセンスは5まで拡大した。

② 次に、マイクロアレイ解析により、オフターゲット効果の評価した。ヒト培養細胞を用いた解析では、(2)で選別したアンチセンスを最終濃度10 nMでeGFP安定発現HEK293細胞Lipofection法により導入した。24時間培養後total RNAを抽出し、eGFP mRNAの発現(=オンターゲット効果の確認)についてqRT-PCRで発現を確認した。また、ヒト肝細胞キメラマウスを用いた解析では、条件検討の結果を受け(分量の都合上、本報告書では割愛する)、PXBマウス(♂、12週齢)にAS013-1を20 mg/kgで尾静脈内投与した。投与後72時間後に肝臓を摘出し、total RNAを抽出した。それぞれの実験において抽出したtotal RNAについて、Affymetrix社から販売されているHuman Genome U133 Plus2.0 Arrayを用いてマイクロアレイ解析を行った。

③ マイクロアレイにより得られたデータの解析手順の概要は以下のとおりである。

①解析ソフトウェア GeneChip Operating software 1.4(MAS5.0)を用いて、プローブセットごとのシグナル値を算出した。② GeneChipによる遺伝子発現データを解析に使用するため、GeneChip Operating Software 1.4を用いてシグナル値の平均が一定となるようにデータを正規化した。③ Detection call(各シグナル値の信頼性の指標:Present, marginal, absent)に基づいて、信頼性の低いデータを除去した。その際、コントロール群あるいはアンチセンス作用群でn=4のうち少なくとも3つ以上のデータでPresent判定のものを有効データとした。④2群間比較を行い、得られたp.valueから統計学的多重性を考慮しBenjamini-Hochberg(BH)法を用いて、False Discovery Rate(FDR)を算出し、 $FDR \leq 0.05$ を満たすプローブセットを抽出した。⑤オフターゲット遺伝子の発現変動の解析において、1つの遺伝子に対して複数のプローブセットがある場合は、Fold Change(FC)値(FC=アンチセンス作用群のシグナル値/コントロール群のシグナル値)の変動が最も大きいものを採用した。

④ マイクロアレイにより得られたデータについて、①において抽出したそれぞれの

オフターゲット候補遺伝子群（完全相補群、1塩基ミスマッチ群、2塩基ミスマッチ群等）に関してアンチセンス導入による発現変動を統計解析した。「オフターゲット効果が起こっている」という判定基準をコントロール群と比較して「50%以下の発現抑制」と設定した。③に従ってオフターゲット候補遺伝子群の発現変動を解析した。オフターゲット効果を評価する指標として、アンチセンスの添加で発現が50%以下に変動した遺伝子の数を有効データとして“Present”と判定された遺伝子の数で除した数値（すなわち、解析した遺伝子群のうちアンチセンスにより50%以下まで発現抑制された遺伝子の割合）を算出した。さらに、マイクロアレイ解析の結果を視覚的に捉えるために、“Present”と判定された有効データを使って、Scatter Blot 図（軸にコントロール検体における各遺伝子の発現量を、縦軸にアンチセンス導入による発現変化の割合（log 値表示）を示した図）で遺伝子発現変動を表現した。

#### 4. 研究成果

(1) ヒト培養細胞を用いたオフターゲット効果の解析

① オフターゲット効果の検証に用いるアンチセンスを選別した。eGFP mRNA に対して、13、15、18 塩基長で考えられる全ての相補配列を設計し（13 塩基長：708 本、15 塩基長：706 本、18 塩基長：703 本）、*in silico* 解析により「できるだけ多くのヒト mRNA と相補結合するアンチセンス」および「できるだけ相補しないアンチセンス」を選別した。*in silico* 解析の結果をもとに、13 塩基長のアンチセンスを 3 本、15 塩基長のアンチセンスを 18 本、18 塩基長のアンチセンスを 39 本、合計 60 本選別し「オンターゲット効果の強度によるアンチセンスの絞り込みに進めた。なお、オフターゲット候補遺伝子の多いアンチセンスは 60 本中 38 本、少ないアンチセンスは 60 本中 22 本である。

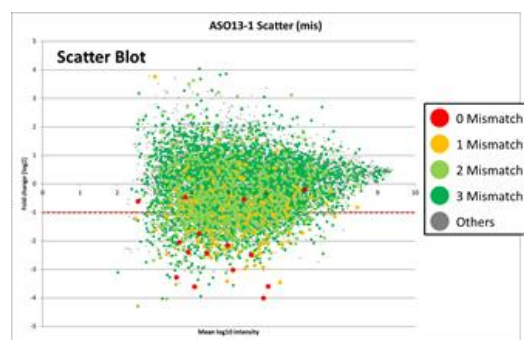
② *in silico* 解析で抽出した「できるだけ多くのヒト mRNA と相補結合するアンチセンス・38 本」および「できるだけ相補しないアンチセンス・22 本」について、それぞれを eGFP 安定発現 HEK293 細胞に導入し、eGFP mRNA の発現抑制効率を調べた。その結果、26 本のアンチセンスにおいて 50%未満まで発現抑制が観察された。この結果と *in silico* 解析の結果を考慮して、以降のオフターゲット効果の解析に用いる 8 本のアンチセンス（13 塩基長：AS013-1、AS013-2、AS013-3、15 塩基長：AS015-1、AS015-2、AS015-3、18 塩基長：AS018-1、AS018-2）のアンチセンスを決定した。このうち、AS013-3、AS015-3、AS018-2 は「オフターゲット候補遺伝子が極力少なく、かつ、高い eGFP mRNA 分解活性を有するアンチセンス」として同定した。

チセンス」として同定した。

③ 本研究の目的を踏まえ、本解析ではオフターゲット効果が観察されやすいと思われる条件として、「できるだけ高濃度のアンチセンスを導入し、かつ、顕著な細胞毒性がみられないこと（細胞生存率 70%以上）」を設定し、オフターゲット効果の検証を行うこととした。具体的には、AS013-1、AS013-2、AS013-3、AS015-1、AS015-2、AS015-3、AS018-1、AS018-2 の各アンチセンスを最終濃度 10 nM で eGFP HEK293 細胞に導入した後、24 時間後に eGFP mRNA の発現ならびに細胞生存率を調べた。いずれのアンチセンスにおいても 40%未満まで発現抑制が認められ、かつ、70%以上の細胞生存率が確認された。本条件でマイクロアレイ解析を行い、オフターゲット効果の評価を行うこととした。

④ マイクロアレイ解析では、3- (3) で述べた条件のもと、ミスマッチを有するオフターゲット候補遺伝子の発現変動を調べた。実際にはマイクロアレイ解析のために上述した 8 本を抽出したが、先行して解析した各塩基長のアンチセンス AS013-1、AS015-1、AS018-1（いずれもオフターゲット候補遺伝子が多いアンチセンスとして抽出）の結果から得た知見について延べる。

⑤ 13 塩基長のアンチセンス (AS013-1) を用いた解析では、AS013-1 と相補性のない遺伝子が 50%以下に減少する割合は 11.2%であるのに対し、AS013-1 と 0 塩基 (完全相補)、1 塩基、2 塩基、3 塩基のミスマッチを有する遺伝子ではそれぞれ 73.3%、57.9%、31.0%、19.2%であった。すなわち、「50%以下に減少する割合」はオフターゲット効果の概念から予測されるように、相補性の程度と完全に相関していた。Scatter Blot 図 (図表 1) を見ると、いずれにおいても完全相補 (赤)、1 塩基ミスマッチ (黄色)、2 塩基ミスマッチ (黄緑)、3 塩基ミスマッチ (緑) の遺伝子の順に、50%以下まで発現抑制されている遺伝子の割合が大きいことを視覚的に捉えることができる。



図表1. マイクロアレイの解析結果(ヒト細胞)

AS013-1とミスマッチを許容して相補結合するmRNAの発現変動

また、3 塩基ミスマッチを有するオフター

ゲット候補遺伝子の抑制効果は相補性のない遺伝子 (Other) よりも大きいことから、13 塩基長の Gapmer 型アンチセンスは、今回の条件 (培養細胞にリポフェクション法でアンチセンスを高濃度で導入) では、少なくとも 3 塩基ミスマッチを有する遺伝子まではオフターゲット効果の影響を受ける可能性があるといえる。

⑥ 15 塩基長 (AS015-1) および 18 塩基長 (AS018-1) のアンチセンスでは、13 塩基長のアンチセンス (AS013-1) と比べ、ミスマッチの影響がより小さくなる傾向が観察された。「50%以下に発現抑制される割合」を比較すると、例えば、2 塩基ミスマッチを有する遺伝子は、AS013-1 では 31.0%、AS015-1 では 51.4%、AS018-1 では 87.5%であり、塩基長が長くなるほど同じミスマッチ数を許容しても発現抑制の起こる確率は高くなる傾向にあることがわかった。以上の結果は、「オフターゲット効果とアンチセンス塩基長の関係の二面性」のうち、「塩基長が長いほど、アンチセンス-RNA 間の結合力は増大するため、ミスマッチを許容しやすい」ことを示していると思われる。

⑦ また、「オフターゲット効果の影響を受ける可能性があるアンチセンスの配列条件」としては、「50%以下に発現抑制される割合」で評価すると、15 塩基長のアンチセンス (AS015-1) では少なくとも 4 塩基ミスマッチを有する遺伝子まで、18 塩基長のアンチセンスでは少なくとも 5 塩基ミスマッチを有する遺伝子 (AS018-1) まではオフターゲット効果の影響を受ける可能性があるといえる。ただし、この結果は培養細胞にアンチセンスを高濃度で導入した時の遺伝子発現変化であることに留意する必要がある。

(2) ヒト肝細胞キメラマウス (PXB マウス) を用いた解析

① 本研究では、「アンチセンス医薬品のオフターゲット効果の評価におけるヒト肝細胞キメラマウスの有用性」の検証を行った。AS013-1 を 20 mg/kg でヒト肝細胞キメラマウスに尾静脈内投与した。72 時間後に肝臓から抽出した total RNA を用いてマイクロアレイ解析を行い、ミスマッチを有するオフターゲット候補遺伝子の発現変動を調べた

② ヒト肝細胞キメラマウスの肝臓における遺伝子発現変動をヒト細胞を用いた解析結果と比較すると、発現変動している遺伝子の絶対数が非常に少ない傾向が観察された。例えば、相補性のない遺伝子群 (Other) において有意に発現変動した遺伝子数を比較すると、ヒト培養細胞を用いた解析では 4 桁 (数千) の遺伝子が有意に変動するのに対し、ヒト肝細胞キメラマウスでは約 300

遺伝子と 3 桁しか変動していなかった。このように発現変動した遺伝子数が全体として 1 オーダー低い値となっていることから、ヒト肝細胞キメラマウスでは細胞内に到達したアンチセンス量が十分ではなかったと考えられる。今回の投与量は、正常マウスではオンターゲット効果が十分に確認できる程度にアンチセンスが肝臓に到達していることから、通常マウスの肝臓とヒト肝細胞キメラマウスの肝臓では、アンチセンスの細胞内取り込みの過程等に違いがみられると予想される。ヒト肝細胞キメラマウスの肝臓に十分量のアンチセンスを導入するには、さらに高い投与量が必要と考えられ、投与量を設定する際にもヒト肝細胞キメラマウスを用いる必要があると思われる。以上のように、ヒト肝細胞キメラマウスでは十分量のアンチセンスが取りこまれていないと考えられるが、この前提でオフターゲット候補遺伝子の発現変動に関して結果を述べる。

③ AS013-1 では、完全相補する遺伝子がヒト肝細胞キメラマウスの肝臓に 16 発現していたが、このうち 2 つの遺伝子は 50%以下に発現抑制されていた。従って、肝臓に到達したアンチセンスの量は少なかったと予想されるものの、相補性の高い遺伝子については、オフターゲット効果の影響を受けていることがわかり、ヒト肝臓にオフターゲット効果が個体で検証できるという点において、ヒト肝細胞キメラマウスが有用であることが示唆された。

(3) 本研究のまとめ

① 13、15、18 塩基長の Gapmer 型アンチセンスのいずれにおいても、明確なオフターゲット効果が観察され、相補性が高いほど発現抑制を受ける遺伝子の割合が大きかった。

② Gapmer 型アンチセンスの塩基長が長くなるほど、ミスマッチの影響は小さくなり、多くのミスマッチが入っても発現抑制される確率が高くなる傾向にあった。

③ 今回の解析から、各塩基長の Gapmer 型アンチセンスについて、相補性の程度と発現抑制される遺伝子の割合の関係が明らかになったが、発現抑制される遺伝子と発現抑制されない遺伝子を *in silico* 解析から予測することは現時点では難しいことがわかった。

④ ヒト肝細胞キメラマウスにおいてもオフターゲット効果による発現抑制が観察され、ヒトにおけるオフターゲット効果の発現を動物個体で検証できるポテンシャルが示された。ただし、今回検討を行った投与量ではアンチセンスの肝臓内への導入が十

分でなかったと考えられるなど、今後精査すべき課題も明らかとなった

<引用文献>

- ① Obika, S., et al., Synthesis of 2'-O,4'-C-methyleneuridine and -cytidine. Novel bicyclic nucleosides having a fixed C<sub>3'</sub>, -endo sugar puckering, *Tetrahedron Lett.*, 38, 1997, 8735-8738
- ② Jackson, AL., et al., Expression profiling reveals off-target gene regulation by RNAi, *Nat. Biotechnol.*, 2003, 21, 635-637
- ③ Naito, Y., et al., GGRNA: an ultrafast, transcript-oriented search engine for genes and transcripts, *Nucleic Acids Res*, 40, 2012, W592-596

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ① Shimo, T., Tachibana, K., Saito, K., Yoshida, T., Tomita, E., Waki, R., Yamamoto, T., Doi, T., Inoue, T., Kawakami, J., Obika, S.: Design and evaluation of locked nucleic acid-based splice-switching oligonucleotides *in vitro.*, *Nucleic Acids Res.*, 査読有り, 42, 2014, 8174-8187  
DOI:10.1093/nar/gku512

[学会発表] (計10件)

- ① 吉田徳幸、内藤雄樹、佐々木澄美、内田恵理子、小比賀聡、内藤幹彦、佐藤陽治、井上貴雄：アンチセンス医薬品のオフターゲット効果の安全性評価に関する研究、日本薬学会第135年会、2015年3月28日-3月30日、神戸学院大学(兵庫・神戸市)
- ② 佐々木澄美、吉田徳幸、内田恵理子、内藤幹彦、佐藤陽治、井上貴雄：核酸医薬品の細胞内取り込み機構に関する解析、日本薬学会第135年会、2015年3月28日-3月30日、神戸学院大学(兵庫・神戸市)
- ③ 萩原衆子、山本誠司、吉田徳幸、佐々木澄美、飯村信、小泉誠、内藤幹彦、佐藤陽治、植村英俊、井上貴雄：修飾型オリゴ核酸による自然免疫活性化の評価法に関する研究、日本薬学会第135年会、2015年3月28日-3月30日、神戸学院大学(兵庫・神戸市)
- ④ Yoshida, T., Sasaki, K., Obika, S., Sato, Y., Inoue, T.: Evaluation of Off-target Effects of Antisense Oligonucleotides, 10th Annual

Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society, 2014. 10. 12-10. 15, San Diego(USA)

- ⑤ 萩原衆子、山本誠司、吉田徳幸、佐々木澄美、飯村信、小泉誠、佐藤陽治、植村英俊、井上貴雄：オリゴ核酸による自然免疫活性化の評価法に関する研究、アンチセンス・遺伝子・デリバリーシンポジウム2014、2014年9月8日-9月9日、東京医科歯科大学(東京・文京区)
- ⑥ 佐々木澄美、吉田徳幸、内田恵理子、佐藤陽治、井上貴雄：siRNAの細胞内取り込み機構の解析、第6回日本RNAi研究会、2014年8月28日-8月30日、グランドプリンスホテル広島(広島・広島市)
- ⑦ 吉田徳幸、内田恵理子、小比賀聡、佐藤陽治、井上貴雄：オフターゲット効果の安全性評価法の確立に向けた基盤研究、日本薬学会第134年会、2014年3月27日-3月30日、熊本大学(熊本・熊本市)
- ⑧ 吉田徳幸、内田恵理子、小比賀聡、佐藤陽治、井上貴雄：オフターゲット効果の安全性評価法の確立に向けた基盤研究、第23回アンチセンスシンポジウム、2013年11月28日-11月29日、徳島大学(徳島・徳島市)
- ⑨ Yoshida, T., Inoue, T., Uchida E, Sasaki, K., Obika, S., Sato, Y.: In Silico Analysis of Off-target Effects of Oligonucleotide Therapeutics, 9th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society, 2013. 10. 06-10. 08, Napoli(Italy)
- ⑩ 吉田徳幸、井上貴雄、内田恵理子、小比賀聡、佐藤陽治：siRNAの細胞内取り込み機構の解析、オフターゲット効果の安全性評価法の確立に向けた基盤研究、2013年8月29日-8月31日、グランドプリンスホテル広島(広島・広島市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田 徳幸 (YOSHIDA, Tokuyuki)  
大阪大学・大学院薬学研究科・招聘教員  
研究者番号：00649387

(2) 研究協力者

井上 貴雄 (INOUE, Taskao)  
佐々木 澄美 (SASAKI, Kiyomi)  
内藤 雄樹 (NAITO, Yuki)  
小比賀 聡 (OBUKA, Satoshi)