

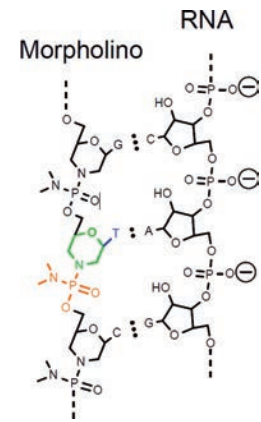
ピックアップ

発生生物学から核酸医薬関連まで幅広い研究分野で使用されています
モルフォリノアンチセンスオリゴ

発生学の分野では、モルフォリノオリゴをアフリカツメガエルなどの受精卵にマイクロインジェクションすることにより、標的遺伝子の発現を特異的に阻害する手法が多く用いられてきました。一方、デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対するモルフォリノ治療薬（核酸医薬）「Eteplirsen」が2016年に初めて米国FDAに承認されるなど、近年はエキソンスキッピングによる疾病治療の研究にも用いられています。

モルフォリノアンチセンスオリゴの特長

- RNA に対して結合活性があり、標的の特異性が非常に高い
- 水溶性が高い
- 電荷を持たないため、タンパク質との非特異的な結合がない
- スクレアーゼ耐性があり、細胞内で分解されない
- 基本構造は免疫反応を誘発しない（非毒性）
- 末端に修飾することによりプローブとして使用できる
- 官能基を付加することでペプチドやタンパク質などの化合物と結合させることができる

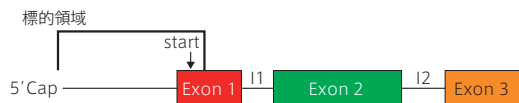


モルフォリノオリゴは RNA の配列特異的のマスクングテープのようなもので、短い配列に結合して他の大きな分子のアクセスを妨げる働きがあります。RNase 依存または RISC 依存のオリゴと異なり、翻訳阻害と核におけるプロセッシング（mRNA のスプライシング）の双方を標的とすることができます。

モルフォリノオリゴと siRNA の比較

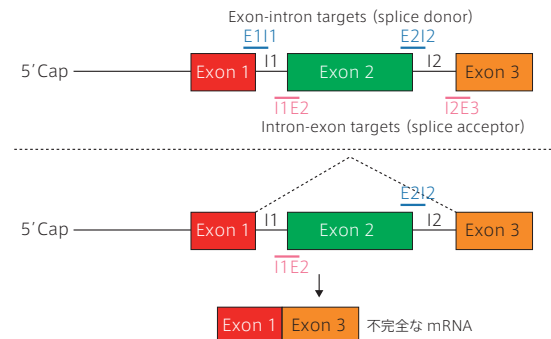
	モルフォリノオリゴ	siRNA
ノックダウンのメカニズム	タンパク質を介さずに立体阻害を引き起こす	細胞のウイルス防御機構や発現制御システム（RISC）を使う
非特異的応答	ほとんど起こらない	頻繁に発生
認識配列	14 塩基以上	約 10 塩基
自然免疫応答の誘導	モルフォリノ-RNA のヘテロ二本鎖は TLR を活性化しない	siRNA-RNA ヘテロ二本鎖は TLR を活性化する
安定性	細胞内の酵素によって分解されない	不安定で RNase によって分解される
ノックダウンレベル	一部のモルフォリノは、ウェスタンブロット解析において標的タンパク質の発現量を検出レベル以下に抑える	ノックダウン効率が 85% を超えることは少ない
阻害対象	翻訳、スプライシング、miRNA、タンパク質結合	翻訳のみ
成功率	未検証の配列でもノックダウン成功率は約 75% とされ、一般的に 1 種類のモルフォリノを用意すれば十分とされる	効果的な配列を確認するために、少なくとも 3~4 種類の siRNA 配列を用意することが一般的

タンパク質の翻訳を阻害する場合の配列設計



mRNA の 5' キャップ部位から開始コドンの約 25 塩基下流までの領域を標的配列として、翻訳開始複合体を立体的に阻害します。ほとんどの場合、標的遺伝子に対して 1 つのモルフォリノオリゴをデザインするだけで、非常に高い確率でタンパク質の翻訳阻害効果を示します。

mRNA のスプライシング阻害をする場合の配列設計



最も効果を期待できる標的配列は、**エキソン 2-イントロン 2 (E2I2)** または、**イントロン 1-エキソン 2 (I1E2)** の領域で、結果としてエキソン 2 の欠失が起こります。