

世界初の mRNA の完全化学合成 ～精密分子デザインによる天然を凌駕するスーパーmRNA の創製～

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学大学院理学研究科の阿部 洋 教授（糖鎖生命コア研究所 統合生命医科学糖鎖研究センター分子生理・動態部門 教授）、阿部 奈保子 特任准教授らの研究グループは、酵素を用いない mRNA の完全化学合成法を世界で初めて開発しました。

本研究では、生物学的手法ではなく化学合成法を用いることで、mRNA を安価に大量に調製することを可能にしました。また、化学合成手法を用いることで、これまで不可能であった mRNA の精密分子デザインが可能になり、安定性や機能の向上が達成されました。本手法を用いて作られたスーパーmRNA はコロナウイルスなどの感染症ワクチン、癌ワクチン、再生医療等への応用が期待されます。

本研究成果は、2022 年 5 月 24 日付アメリカ化学会雑誌「ACS Chemical Biology」に掲載されました。

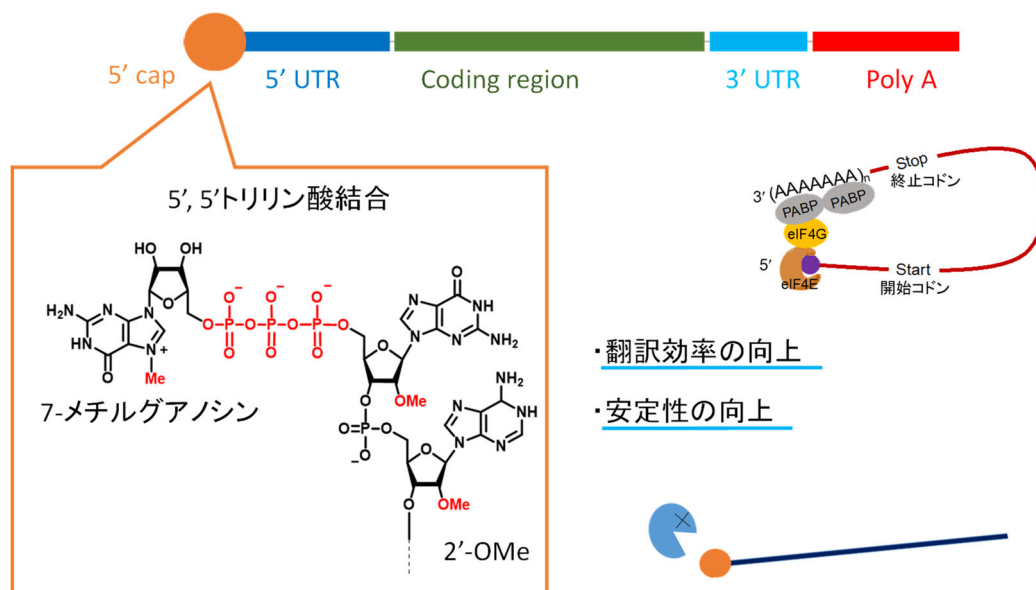
本研究は、2021 年度から始まった AMED LEAP 事業「化学を基盤とした mRNA の分子設計・製造法の革新とワクチンへの展開」の支援のもとで行われたものです。

【ポイント】

- ・ 酵素を用いない mRNA の完全化学合成を世界で初めて開発した。
- ・ mRNA を安価に大量合成することが可能になった。
- ・ これまで不可能であった mRNA の精密分子設計が可能になった。
- ・ 天然を凌駕するスーパーmRNA は、コロナウイルスなどの感染症ワクチン、癌ワクチン、再生医療等への応用が期待される。

【研究背景と内容】

メッセンジャーRNA (mRNA) とは、遺伝子である DNA から写し取った遺伝情報を担う分子です。細胞内で、mRNA を鋳型としてタンパク質が生合成されます。真核生物の mRNA は 3' 末端にポリ A 鎖を持ち、また、5' 末端には 7 位がメチル化されたグアノシン (m^7G) を含む 5' キャップと呼ばれる特徴的な構造を持ちます (図 1)。5' 末端のキャップ構造は、3' 末端のポリ A 鎖と相互作用し、翻訳反応の開始や安定性の付与などに重要な役割を果たします。近年、試験管内で合成された mRNA を生体に投与する、mRNA 医療が実用化されました。新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) に対し、SARS-CoV2 のスパイクタンパク質をコードした mRNA がワクチンとして現在、広く使用されています。このような長鎖の mRNA の合成は、RNA ポリメラーゼを用いて酵素的に行われています。今回我々は、mRNA を化学合成する場合に鍵段階となる、5' 末端キャップ構造の構築法として、簡便で高効率な手法を開発しました。核酸自動合成機で合成した 5' リン酸化 RNA に対し、 m^7G ジリン酸のイミダゾール活性化体を有機溶媒 (ジメチルスルホキシド) 中で反応させることで、95% という高い効率で目的のキャップ構造付加反応が起きることを見出しました (図 2)。このようにして合成したキャップ化 mRNA は、実際に、ヒト培養細胞中において高い翻訳活性を示しました。本研究においては、Cap-2 キャップ構造と呼ばれる、RNA 鎖の 5' 末端の 2 つの塩基が 2'-O-メチル化されたキャップ構造を含む 107 塩基長の mRNA を合成し、この



・ 翻訳効率の向上

・ 安定性の向上

図 1. 真核生物のメッセンジャーRNA 構造的特徴を示す図

ものが培養細胞において 2'-O-メチル基を持たない Cap-0 キャップ構造含有 mRNA よりも 2.6 倍高い翻訳活性を示すことを明らかにしました (図 3)。加えて、酵素合成法で合成した対照サンプルの RNA (IVT/ARCA、図 3) よりも 5.7 倍高い翻訳活性を示すことも示しました。現在、Cap-2 キャップ構造を効率的に構築する方法は確立されていないことから、本法の今後の応用が期待できます。また、非ヌクレオチド型の化学修飾^{注1)} (トリエチレングリコール、図 2) を導入した mRNA を合成し、その翻訳活性への影響を調べました。その結果、導入位置が非翻訳領域の場合は、ほとんど翻訳活性を下げないことも明らかにしました。これは、今後の化学修飾導入 mRNA のデザインに役立つ知見です。

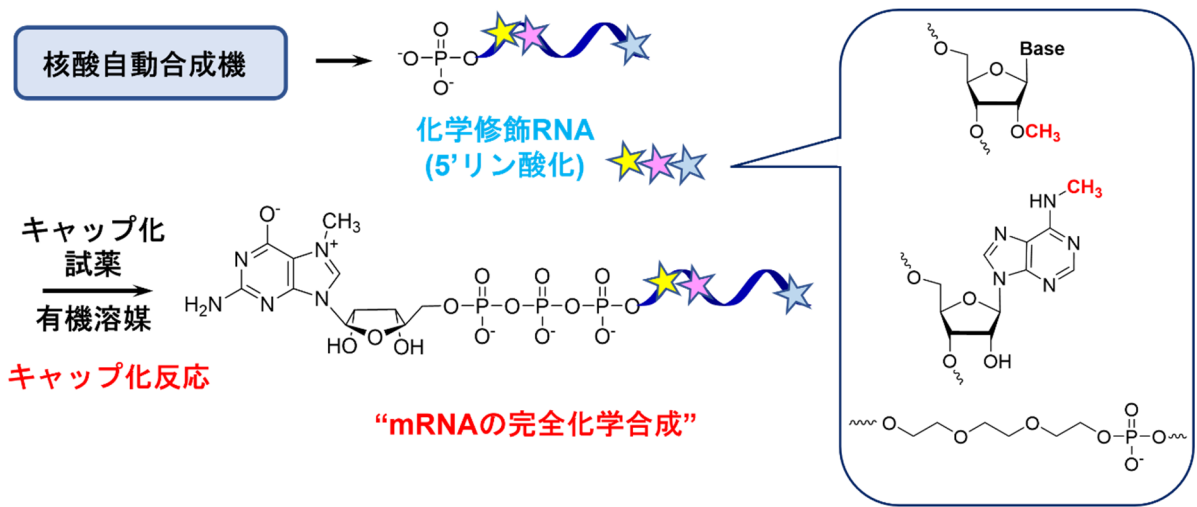


図 2. 本研究成果の概要

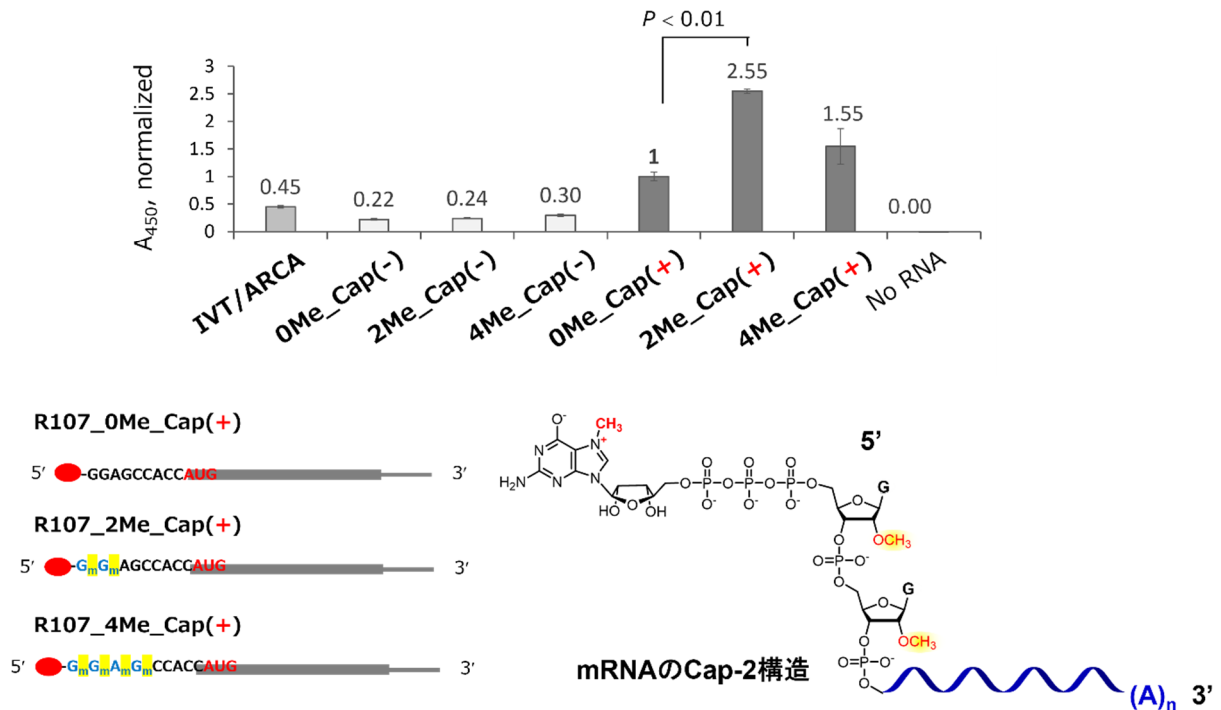


図 3. Cap-2 キャップ構造構築の有効性を示す実験結果

【成果の意義】

化学合成 mRNA には、任意の化学修飾を導入できます。これにより、mRNA の安定性改善や翻訳効率の向上を目指すことが出来ます。そのため、本手法は、現存の mRNA 医薬の活性を飛躍的に改善する手法の有力なツールとして用いることが期待されます。

【用語説明】

注 1) 非ヌクレオチド型の化学修飾：

天然に存在する RNA/DNA 分子においては、ヌクレオチドと呼ばれる構成単位が連続的に連なり鎖状分子を形成する。本研究では RNA 分子を化学合成することで、天然の RNA 分子に含まれることがない、トリエチレングリコール分子を mRNA 鎖中に導入し、翻訳反応に及ぼす影響を調べた。

【論文情報】

雑誌名： ACS Chemical Biology

論文タイトル： Complete Chemical Synthesis of Minimal Messenger RNA by Efficient Chemical Capping Reaction

著者：Abe, Naoko(阿部 奈保子、特任准教授)；Imaeda, Akihiro (今枝 昭裕)；Inagaki, Masahito (稲垣 雅仁、特任助教)；Li, Zhenmin (研究員)；Kawaguchi, Daisuke (川口 大輔)；Onda, Kaoru (恩田 馨)；Nakashima, Yuko (中嶋 裕子、研究員)；Uchida, Satoshi(内田 智士)；Hashiya, Fumitaka (橋谷 文貴、助教)；Kimura, Yasuaki(木村 康明、講師)；Abe, Hiroshi (阿部 洋、教授)

DOI: 10.1021/acscchembio.1c00996

URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acscchembio.1c00996>