



ユーザー様製品ご使用例

mCherry coding mRNA を内包した人工ウイルスキャプシドの創製

鳥取大学 学術研究院工学系部門 教授
松浦 和則 様

製品紹介は → p.5

① 背景

球状ウイルスは、タンパク質が正 20 面体対称となるように自己集合した「キャプシド」に核酸が内包された生体超分子である。球状ウイルスのキャプシドは、核酸が無くともタンパク質だけで自己集合し、決まった大きさの内部空間を有するナノカプセルを形成することから、ドラッグデリバリーシステム (DDS) のキャリアや、ナノコンテナ・ナノリアクターとしても応用されている。当研究室では、化学的に分子設計可能なトマトブッシースタントウイルス由来の β -Annulus ペプチド (INHVGTTGG AIMAPVAVTRQLVGG) の自己集合により、天然の球状ウイルスキャプシドのような内部空間を有する粒径 30~50 nm の「人工ウイルスキャプシド」を構築することに成功している¹⁾。近年、新しいタイプの核酸医薬品として mRNA が注目されており、タンパク質補充療法やワクチンとして使用できることが示されている。mRNA 医薬は DNA 医薬とは異なり、細胞質で直接タンパク質合成を誘導するという利点がある。しかし、一般的に mRNA はリボヌクレアーゼによる分解のため不安定であり、負電荷の多い細胞膜との静電反発により膜透過しにくい。そのため、mRNA を選択的に内包し、細胞内に送達するナノサイズの DDS キャリアの開発が望まれている。そこで我々の研究室では、上記の β -Annulus ペプチドからなる人工ウイルスキャプシドに mRNA を内包する方法を開拓した。

② mCherry coding mRNA の人工ウイルスキャプシドへの内包

天然の RNA ウイルスは、キャプシド内部の RNA 結合部位との相互作用を介して、選択的に RNA を内包している。人工ウイルスキャプシド内に mRNA を選択的に内包するために、我々は、真核生物の mRNA の 3' 末端側に 100 塩基程度の poly A テールが付加されていることに着目し、dT₂₀ と mRNA の poly A テールの二重鎖形成を介して人工ウイルスキャプシド内に mRNA を選択的に内包することを考えた²⁾。この戦略を効果的に実証するために、poly A テールを有し、細胞内導入を可視化できる蛍光性タンパク質をコードしている mRNA 試薬を探していたところ、フナコシで販売している mCherry coding mRNA (メーカー: OZ Biosciences 社) に出会った。キャプシドの内側に配向する β -Annulus ペプチドの N 末端に Cys を導入し、ジスルフィド結合を介して dT₂₀ を連結した dT₂₀-SS- β -Annulus コンジュゲートを合成した。この dT₂₀-SS- β -Annulus と未修飾 β -Annulus ペプチドを共集合させる際に、mCherry coding mRNA と二重鎖形成させることで、粒径 52 nm の mRNA 内包人工ウイルスキャプシドを構築することができた (図 A~C)。この mRNA 内包人工ウイルスキャプシドは、十分なりボヌクレアーゼ耐性を示し、細胞透過性ペプチド (His16) 修飾により HepG2 細胞内に導入され、mCherry の発現が共焦点レーザー顕微鏡で確認された (図 D)。これらの結果は、人工ウイルスキャプシドが RNA 医薬のデリバリー材料として応用可能であることを示唆しており、今後も種々検討したいと考えている。

③ 参考文献

- 1) K. Matsuura, *Chem. Commun.*, **54**, 8944 (2018).
- 2) Y. Nakamura, Y. Sato, H. Inaba, T. Iwasaki, K. Matsuura, *Appl. Sci.*, **10**, 8004 (2020).



松浦研究室の集合写真
(後列 右から 2 人目が松浦教授)

図 (A) mRNA 内包人工ウイルスキャプシドの構築, (B) DLS 粒径分布, (C) TEM 像, (D) HepG2 細胞内での mCherry coding mRNA の発現

