

多様なエンジニアリング戦略によって広がる 人工mRNAの可能性

大野 博久¹, 齊藤 博英^{1,2}

新型コロナウイルスワクチンの実用化により人工mRNAが大きな注目を集めている。設計が容易でゲノムに組み込まれる恐れがないなど、多くの利点を持つ人工mRNAは、感染症に対するワクチンのみならず、がんワクチンや遺伝子治療、再生医療など幅広い分野での利用が期待されている。しかし、安定性の低さやタンパク質発現強度の不足といった解決すべき課題も依然として多く存在する。現在、それらの問題に対応するため、さまざまなアプローチによる人工mRNAの改変が研究されている。最近では、環状や分岐状といった、天然のmRNAとは異なる構造を持つ人工mRNAも登場している。本稿では、こうした多様な人工mRNAエンジニアリングの現状を概観する。

1. 人工mRNA

RNAは、機能的にタンパク質合成のためのアミノ酸配列をコードしたメッセンジャーRNA (messenger RNA: mRNA) と、コードしていないRNA [ノンコーディングRNA (non-coding RNA)] に分類される。かつては、RNAの医薬応用といえば、標的遺伝子の発現を抑制する低分子干渉RNA (small interfering RNA: siRNA) や標的RNAを切断するRNA酵素 (リボザイム)、標的分子に特異的に結合してその機能を阻害するRNAアプタマーといったノンコーディングRNAが注目されていた¹⁾。しかしその状況はmRNAワクチンの登場によって一変した。

mRNAを遺伝子発現ベクターとして利用するというア

イデア自体は新しいものではないが、その実現にはRNAの不安定さや免疫原性の高さ、RNAの合成法や送達法といった問題を解決する必要がある。修飾塩基を利用することで免疫応答を抑制できるというKarikoらの発見^{2,3)}や、周辺技術の発展により、人工mRNAの実用化に向けた準備が整いつつある中で、新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) が発生した。迅速にmRNAワクチンが開発され、その効果が世界中で実証されたことで、人工mRNAはRNA医薬の中心的存在として一気に台頭した。

ベクターとしてのmRNAには多くの利点がある^{4,5)}。mRNAは細胞質で機能するため、核内まで到達させる必要がない。そのため、非分裂細胞を含む多くの細胞で利用可能である。配列の設計は容易で、RNAポリメラーゼ酵素を用いた試験管内転写反応による合成も比較的簡単である。原理的に外来遺伝子がゲノムに組み込まれる心配もない。ゲノムに対する安全性の高さは特に、ヒトを対象とする医療分野において重要な特性であり、心不全に対する血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) mRNA治療⁶⁾や、山中因子と呼ばれる一群のリプログラム因子をコードしたmRNAによるヒト体細胞からの人工多能性幹細胞 (iPS細胞) へのリプログラミング^{7,8)}などで成果を上げている。これらはほんの一例にすぎず、人工mRNAはワクチンを超えた幅広い用途での応用が期待され、基礎および臨床の両方で研究が進められている⁹⁾。

¹ 京都大学 iPS 細胞研究所 (〒606-8507 京都府京都市左京区聖護院川原町53)

² 東京大学定量生命科学研究所 (〒113-0032 東京都文京区弥生1-1-1)

Synthetic mRNA: Diverse engineering strategies

Hirohisa Ohno¹ and Hirohide Saito^{1,2} (¹Center for iPS Cell Research and Application, Kyoto University, 53 Kawahara-cho, Shogoin, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan, ²Institute for Quantitative Biosciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0032, Japan)

本論文の図版はモノクロ (冊子版) およびカラー (電子版) で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2024.960795

© 2024 公益社団法人日本生化学会

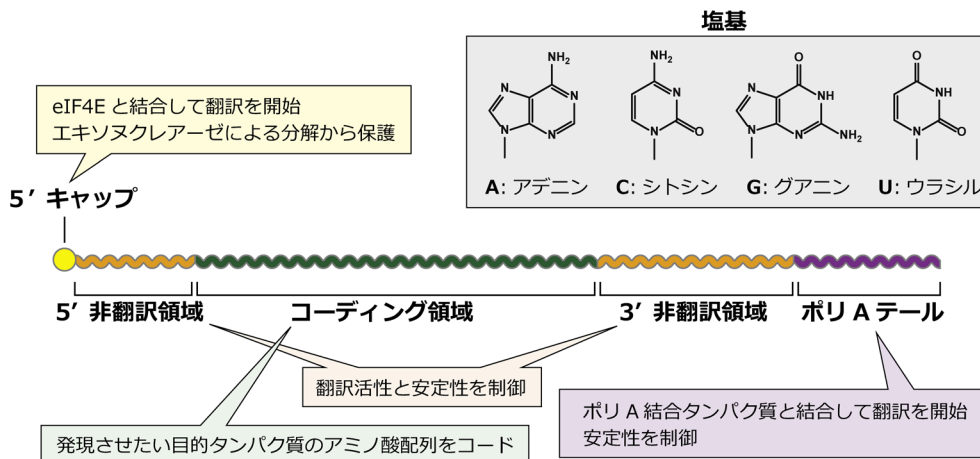


図1 人工 mRNA の構造と機能

5'側より、5'キャップ、5'非翻訳領域、コーディング領域、3'非翻訳領域、ポリ A テールからなる。

2. 人工 mRNA エンジニアリング

さまざまな用途での利用が期待される人工 mRNA だが、化学的・生物学的安定性の低さや、それに起因する効果の持続性の低さについては、依然として改善が求められている。用途によっては、タンパク質発現の強度も不十分である。生体への応用を考慮すると、副作用・副反応をいかに抑えるかも重要な課題である。これらの課題に対して非常に多様な研究が進められているが、ここでは RNA そのもののエンジニアリングに焦点を当て、RNA の構造領域 (図1) ごとに紹介する。

1) 塩基の化学構造

外来 RNA は非常に強力に免疫系を刺激する。アジュバント活性として有益な場合もあるが、過剰な免疫応答は細胞死を引き起こすなど、不利益を生じる場合も多い。外来 RNA による免疫応答には Toll 様受容体や RIG-I, PKR などさまざまな因子が関与している¹⁰⁾。Kariko らは、mRNA 中の塩基を 5-メチルシトシン (5-methylcytosine : m⁵C) や シュードウラシル (pseudouracil : ψ) といった修飾塩基で置換することで効果的にそれら免疫系の活性化を回避できることを発見した^{2,3)}。それにより、細胞毒性の低減とタンパク質発現強度の改善が実現された。その後、U のメチルシュードウラシル (N1-methylpseudouracil : m¹ ψ) への置換が、 ψ への置換よりも優れた性能を示すことがわかり¹¹⁾、ワクチンをはじめ広く利用されている。

引き続き有用な修飾塩基の探索は行われており、ヒト細胞にも存在するアセチルシトシン (N4-acetylcytosine)¹²⁾ や、人工的な化合物である 5-フルオロシトシン [(C)5-fluorocytosine]¹³⁾、シアノバクテリアに感染するファージが持つ 2-アミノアデニン (2-aminoadenine)¹⁴⁾ などの有効性が報告されている。しかしながら、m¹ ψ が細胞の種類や mRNA の配列によらずに普遍的に効果が高く、単独で十分な性能を示す場合が多い。そのため、現状では U の m¹ ψ への置換が標準

的となっている。

2) 5'キャップ

ヒトを含む真核生物の mRNA は、その 5' 末端に 7-メチルグアノシンキャップ構造を持つ。キャップは翻訳開始因子 eIF4E と直接相互作用し、翻訳開始をつかさどる。また、RNA を分解する 5'→3'エキソヌクレアーゼから mRNA を保護するという役目も担う。人工 mRNA 分野におけるキャップに関する最初の課題は、キャップ構造を持つ RNA をいかに効率よく合成するかであったが、キャップ構造が付加されたジヌクレオチドを転写反応系に加えて取り込ませることで一応の解決をみた¹⁵⁾。その後、トリヌクレオチド型のキャップアナログが開発され、キャップを持つ RNA の収率の改善と +1 位のヌクレオチドの 2'-O-メチル化 (キャップ 1 構造) による免疫原性の低減がなされている¹⁶⁾。

化学合成したキャップアナログを利用する場合、キャップ部位にさまざまな化学修飾を導入することが可能である。たとえば、mRNA とキャップ間のリン酸基をホスホロチオエート化したり、キャップ部のリボースを修飾したりすることによって翻訳活性を向上させることができる¹⁶⁾。また、mRNA の安定性や翻訳活性の改善のみならず、蛍光色素のような機能性分子の付加^{17,18)} や、eIF4E との相互作用を阻害する光感受性の保護基で修飾し、光照射により翻訳活性が発現するという発現制御系の開発^{19,20)}、光照射によって除去できる疎水性タグで修飾し、高純度な mRNA 精製を実現する方法²¹⁾ など、キャップ修飾のさまざまな活用が報告されている。

キャップ構造は、転写後に酵素を使って形成させることも可能である。そのためにはキャッピング反応の効率が良好で市販もされているワクシニアウイルスのキャッピング酵素 (Vaccinia virus capping enzyme : VCE) が広く利用されている²²⁾。VCE を使えば修飾ヌクレオチドをキャップとして付加させることも可能であり、翻訳活性の高い非天然型のキャップや蛍光色素標識キャップなども合成でき

る²³⁾。最近、VCEよりも幅広い温度域で高い活性を示すファストウイルス (Faustovirus) のキャッピング酵素²⁴⁾が複数メーカーから発売され、キャップを持つRNAを合成するための選択肢は充実しつつある。

3) 非翻訳領域

タンパク質コード領域の上流および下流に位置する5'および3'非翻訳領域 (untranslated region: UTR) は、mRNAの安定性と翻訳活性、細胞内局在を制御している²⁵⁻²⁷⁾。人工mRNAにおいては、安定性を高める目的で、ヒト細胞内で半減期が長いことが知られる α -または β -グロビンmRNA由来のUTR配列が広く使われている。天然のmRNA配列からの効果的なUTR配列のスクリーニング²⁸⁾によって得られたより安定な配列もあり、これは新型コロナウイルスワクチンにも使用されている。最近では機械学習を利用して、翻訳活性や安定性を最大化するUTR配列の設計もなされている²⁹⁾。機械学習やAI技術の成長は著しく、今後AIを活用したmRNAの設計が主流となるかもしれない。また、配列の最適化以外にも、翻訳開始因子eIF4Gに結合する配列を導入することで翻訳活性を高める³⁰⁾といった足し算的なアプローチや、逆に、必須ではない不確定要素と見なしてUTRを計4ヌクレオチドまで最小化する³¹⁾という引き算的なアプローチによる研究も行われている。

UTRには、タンパク質発現を制御するための機能性配列を持たせることも可能である。これまでに、タンパク質や低分子化合物に反応して翻訳開始反応やmRNAの安定性を制御できるさまざまなシステムが報告されている^{32,33)}。ここでは汎用性の高さとデザインの容易さから、我々のグループが開発したマイクロRNA応答性OFFスイッチを紹介する。マイクロRNAは、真核生物にみられる20数ヌクレオチド長の短いノンコーディングRNAである³⁴⁾。ゲノムにコードされているマイクロRNA遺伝子から転写され、複数段階のスプライシングを受けてマイクロRNAへと成熟する。その後、RISC (RNA-induced silencing complex) と呼ばれるタンパク質複合体へと取り込まれ、配列相補的に標的mRNAと相互作用し、翻訳の抑制やmRNAの分解を誘導し、遺伝子発現を抑制的に制御する。このメカニズムを利用し、遠藤らは任意のマイクロRNAの相補配列をUTRに挿入することで、その標的マイクロRNA非存在下ではタンパク質が発現される (ON) が、マイクロRNA存在下ではタンパク質発現が抑制される (OFF) というシステムを開発した (図2)。我々はこれをマイクロRNA応答性OFFスイッチと呼んでいる³⁵⁾。ヒトでは2500種類以上のマイクロRNAが見つかっており、細胞の種類や発生段階、生理学的な状態によって異なる発現プロファイルを示すため³⁶⁻³⁸⁾、マイクロRNAは細胞を識別するためのマーカーとなりうる。実際に、マイクロRNA応答性OFFスイッチによって、対象とする細胞でのみ外来タンパク質を発現させることができ、細胞種特異的

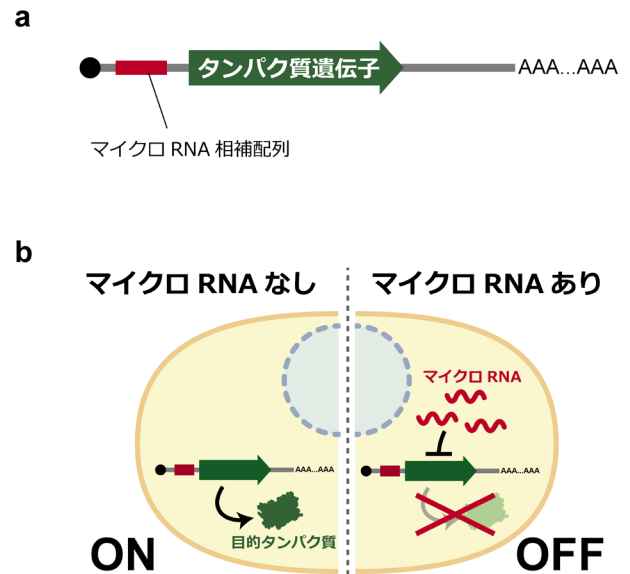


図2 マイクロRNA応答性OFFスイッチ

(a)マイクロRNA応答性OFFスイッチは、任意のマイクロRNAの相補配列をUTRに持つ人工mRNAである。(b)標的マイクロRNAが存在しない場合には通常的人工mRNAと同様に翻訳反応が行われ、コードしている目的タンパク質が発現される (ON状態、左)。マイクロRNAが存在する場合には、マイクロRNAによるスイッチRNAの切断または翻訳抑制が起こり、タンパク質の発現が抑制される (OFF状態、右)。

なマイクロRNA活性に基づく細胞種の識別や選別が可能となった。ワクチンでも同様のシステムが副作用を低減するために利用されており³⁹⁾、人工mRNAの遺伝子発現特異性を制御できる非常に有用な技術である。

4) コーディング領域

コーディング領域の配列は、発現させるタンパク質のアミノ酸配列によって規定されるため、変化は同義コドン間での置換に限られる。しかし、コドンはmRNAの翻訳活性に大きく影響しており、最適コドンの使用により翻訳伸長速度の改善によるタンパク質発現強度の改善が期待できる。翻訳速度の低下はmRNAの安定性を低下させるため、コドン最適化はmRNAの安定化にもつながる⁴⁰⁾。最近では、分子内高次構造がmRNAの安定性と関連していることから⁴¹⁾、二次構造などの要素も考慮した最適配列の設計なども盛んに研究されている^{42,43)}。

5) ポリAテール

ポリAテールはポリA結合タンパク質との相互作用を通じて翻訳開始複合体の形成に関与する。また、mRNAの安定性を制御しており、脱アデニル化酵素によって短くなることでmRNAの分解が生じる⁴⁴⁾。一般的に、ポリAテールの長さが長いほどmRNAは安定でタンパク質発現強度も高い。しかし、合成上の制約もあるため、100~140ヌクレオチド長程度のポリAテールが多く利用されている。

脱アデニル化酵素による分解から保護するため、3'末端を非天然型のヌクレオチドとしたり⁴⁵⁾、蛍光色素を共有

結合で付加させる⁴⁶⁾、ポリA内部にホスホロチオエート修飾を導入する⁴⁷⁾、3'末端の数ヌクレオチドへのホスホロチオエート修飾と末端へのチミジンヌクレオチドの3'-3'結合を組み合わせた⁴⁸⁾といった修飾も報告されている。合成が複雑ではあるものの、これらの改変はmRNA安定性の改善に効果的である。

3. 非天然型の構造を持つ新たな人工mRNA

前節で紹介したエンジニアリングは、“5'キャップ-5'非翻訳領域-コーディング領域-3'非翻訳領域-ポリAテール”という天然のmRNA構造に基づいていた。しかし近年では、天然のmRNAの構造にとらわれない新たな人工mRNAが多数報告されている。

1) 環状mRNA

人工mRNAの応用における最大の課題は生物学的な不安定さである。一過的に抗原を発現させればよいワクチンとは異なり、特に遺伝子補充療法のような用途の場合には効果の持続性が大きい方が望ましい。そこでRNAの末端を共有結合でつなげ、エキソヌクレアーゼに対する抵抗性を持たせた環状mRNAが注目されている。環状化によるRNAの安定化戦略は、siRNA⁴⁹⁾やアプタマー⁵⁰⁾といった比較的短いRNAにおいて採用されてきた。ここでは、リガーゼのようなタンパク質酵素による末端のライゲーションによる環状化が行われてきた。しかし、同様の方法でmRNAのような長鎖のRNAを効率的に環状化させることは難しかった。

実用に足る環状化効率を達成し、環状mRNAの有用性を示したのがWesselhoeftらの研究である⁵¹⁾。彼らは、自己スプライシング反応を行うリボザイムであるグループIイントロンに注目し、リボザイムを分割してRNAの両端部に配置し、周辺配列を最適化した(図3a)。分割されたリボザイムは溶液中で自発的に会合してスプライシング反応を触媒し、切り出されたりボザイム部分と環状化されたRNAを生じる。この機構により、Cas9のような大きな遺伝子を含むRNAをも良好な効率で環状化することができた。環状mRNAには末端がないため、5'キャップ構造を持たない。そこで、翻訳開始のためにキャップ非依存的な翻訳を可能にする内部リボソーム進入部位(internal ribosome entry site: IRES)を挿入している。こうしてできた環状mRNAは数日間にわたってタンパク質を発現し、直鎖状mRNAの数倍の発現持続性を示した。*in vivo*でも環状mRNAの高い持続性が確認でき⁵²⁾、Wesselhoeftらは環状mRNA技術を核とする会社を設立して医薬への展開を進めている。他にも多数の企業が環状mRNAに参入しており、熾烈な競争が行われている。

環状mRNAにおいて解決すべき課題として、合成法とタンパク質発現強度があげられる。RNAが長くなるほど環状化効率は低下する。また、環状化反応を促進するため

の配列が環状化後も存在することで免疫応答を引き起こしてしまう。そのため、環状化後に余分な配列が残らず、高い環状化効率を示すリボザイムや周辺配列のデザインが検討されている^{53,54)}。また、IRESによる翻訳はキャップ依存性翻訳よりも効率が低い。そこで、より翻訳活性が高いIRESの探索やIRESの改変によるタンパク質発現強度の改善が試みられている⁵⁵⁾。

環状mRNAは効果の持続性が高いため、副反応・副作用の影響が大きいことも予想される。そこで我々は環状mRNAからのタンパク質発現を細胞種特異的に制御することに取り組んだ⁵⁶⁾。環状mRNAの非翻訳領域に標的マイクロRNAの相補配列を導入し、マイクロRNA存在下ではタンパク質発現が生じない“マイクロRNA応答OFFスイッチ”とした。直鎖状の人工mRNAの場合と同様に、標的マイクロRNAの存在に基づくタンパク質発現制御が実現でき、目的細胞のみで機能する環状mRNAの構築に成功した。

2) 分岐状RNA

高分子化学ではデンドリマーのような分岐した形状を持つポリマーがよく知られている。天然のRNAにも、スプライシング後のイントロンにおいてラリアットと呼ばれる分岐構造が存在している。そして最近、分岐状構造を持つ人工mRNAの合成が報告された⁵⁷⁾。Chenらは、化学的に合成したポリA鎖を、クリックケミストリーとリガーゼによるライゲーションによって連結し、複数のポリAテールを持つ分岐状mRNAを合成した(図3b)。ポリAテールの化学修飾パターンや本数を最適化した分岐状mRNAのタンパク質発現持続期間は、通常直鎖型mRNAの2倍以上となった。*in vivo*でも改善された持続性を示し、マウスにおける低用量のCas9 mRNAでのゲノム編集の達成など、高い有効性を示した。

合成の複雑さから実用性には疑問符がつくものの、新規な分子構造でありさまざまなバリエーションが可能であるため、どれだけ天然と異なる構造のmRNAを合成できるのか、また、どこまでmRNAとしての機能を向上できるのかなど興味はつきない。

3) 自己増幅RNA

環状や分岐状mRNAが従来のmRNAよりも安定性に優れるとはいえ、徐々に分解は進む。細胞が分裂すれば細胞内mRNAも分配されて半減してしまう。このように、環状や分岐状mRNAでもやはりRNAの効果は経時的に減少していき、mRNAの効果の持続性が低いという問題を完全に解決できてはいない。その改善が期待されるのが自己増幅RNA(self-amplifying RNA: saRNA)である。自己複製RNA(self-replicating RNA: srRNA)やレプリコン(replicon)とも呼ばれる。

遺伝子導入ベクターとしての自己増幅RNAは、一本鎖のプラス鎖RNAをゲノムに持つアルファウイルス、特に

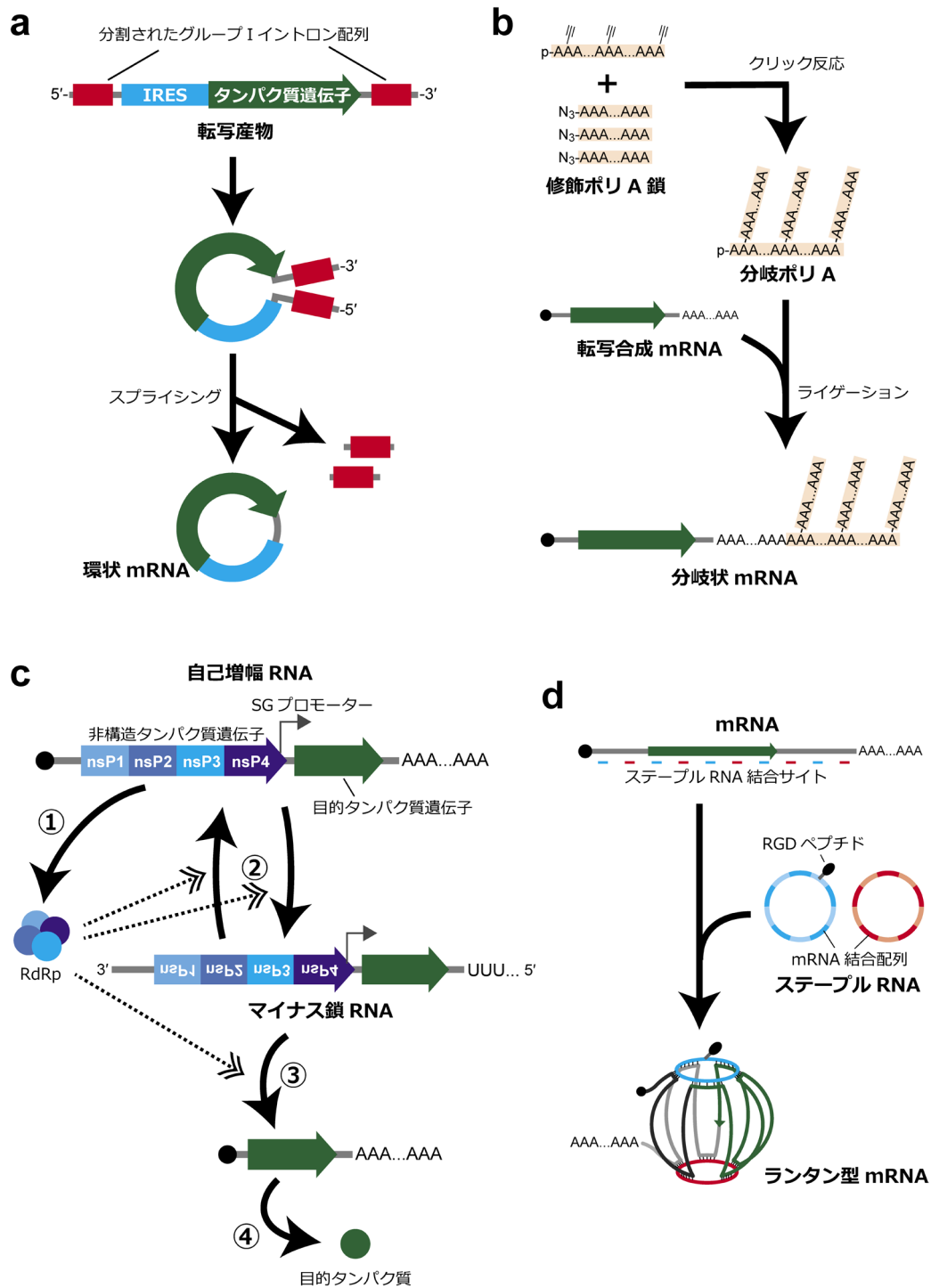


図3 非天然型の構造を持つ人工 mRNA

(a) 環状 mRNA. 分割されたグループ I イントロン (自己スプライシングリボザイム) 配列, 翻訳開始のための IRES, および発現させたいタンパク質のコーディング領域を持つ RNA として転写される. 転写後, 両端のリボザイム配列の自己会合によりリボザイム活性が発現し, そのスプライシング反応によってリボザイム部分の除去とその隣接部位間の連結が生じ環状化 mRNA が得られる. (b) 分岐状 mRNA. コンジュゲーションのための官能基で部位特異的に修飾したポリ A 鎖を化学合成する. それらをクリックケミストリーにより連結させることで, 分岐した複数のポリ A 鎖を持つ RNA が得られる. これを, 試験管内転写により作製した mRNA の 3' 側にライゲーションさせることで分岐状 mRNA が作製される. (c) 自己増幅 RNA. アルファウイルス由来の非構造タンパク質と発現させたい目的タンパク質をコードしている. RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (RdRp) 活性を持つ非構造タンパク質が発現し (①), 自己増幅 RNA を鋳型としてマイナス鎖が, マイナス鎖を鋳型として自己増幅 RNA が合成される (②). また, RdRp によりサブゲノミック (SG) プロモーター以下が mRNA として合成される (③) ことで, そこにコードされた目的タンパク質が発現する (④). (d) ランタン型 mRNA. 通常の線状構造を有する人工 mRNA を, 部分的な相補配列を有するステーブル RNA (環状) と混合して, 提灯の骨組みのような構造へとフォールディングさせる. ステーブル RNA には特定の細胞表面受容体に結合するペプチドをコンジュゲートしており, 細胞種特異的な送達を実現する.

ベネズエラ馬脳炎ウイルス (Venezuelan equine encephalitis virus: VEEV) やセムリキフォレストウイルス (Semliki forest virus: SFV), シンドビスウイルス (Sindbis virus: SINV) 由来のシステムがよく利用されている^{58, 59)}. この自己増幅RNAが細胞に導入されると, RNAの増幅を担う非構造タンパク質 (non-structural proteins: NSPs) が発現する. そのRNA依存性RNAポリメラーゼ活性により, プラス鎖を鋳型としたマイナス鎖の合成およびマイナス鎖を鋳型としたプラス鎖の合成が行われ, RNAが増幅される. また, マイナス鎖RNAを鋳型としてサブゲノミックプロモーターからサブゲノミックRNAの合成が行われる. このサブゲノム領域に外来遺伝子を導入することで, 外来遺伝子の持続的な発現が実現される (図3c).

ワクチンとしては, エボラウイルスやHIV, ジカウイルスといったウイルス感染症やマラリア, 各種がんを利用する研究が進められてきた⁶⁰⁾. 2023年11月には, 自己増幅RNAワクチンとして初めて, 新型コロナウイルスに対するワクチンが承認された⁶¹⁾. 他社からも自己増幅RNAを利用した新型コロナウイルスワクチンの承認申請がなされている. 自己増幅RNAを使うことによって, 効果の持続性の改善はもちろん, 低用量化による副作用の低減も期待されている. また, 高い安全性と持続性に着目し, ヒト体細胞からiPS細胞を作製するための山中因子発現ベクターとしての利用もなされている. 通常のmRNAによる方法では, mRNAの効果の持続性の低さのため, 複数回のRNA導入が必要とされる. 対して, 自己増幅RNAを使えば一度のRNA導入でiPS細胞が得られる^{62, 63)}. 山中因子をコードした自己増幅RNAはキットとして市販もされており, 現在ヒトiPS細胞を樹立するための選択肢の一つとなっている. 自己複製RNAの受託合成サービスを開始する企業も現れており, 実験ツールとしての利用も今後一般的になるかもしれない.

自己増幅RNAは人工mRNAで一般的な ψ や $m^1\psi$ 修飾を導入すると機能を失ってしまう. そのため修飾塩基によって免疫原性を低下させることができず, 場合によっては細胞毒性が問題となっていた. しかし最近, 自己増幅RNAが許容できる修飾塩基について報告された⁶⁴⁾. 自己増幅RNAにおけるCの m^5C への置換は, 自己増幅や導入遺伝子の発現を阻害せずに, RNA導入時のインターフェロン応答を効果的に抑制する. 人工mRNAにおける $m^1\psi$ のように, 今後自己増幅RNAにおいては m^5C を使うことが一般的になるかもしれない.

自己増幅RNAは, NSPs遺伝子のみで約7.5キロ塩基 (kb) とサイズが大きいため, 全長が長大となる. しばしば10kbを超え, コードさせる目的遺伝子によっては20 kb近くになることもある⁶³⁾. これほど長いと, 合成や精製, 品質管理が容易ではない. そこで, NSPsをコードしたmRNAおよび, それによって複製されるRNA [trans増幅RNA (trans-amplifying RNA)] へと分割した系が開発されている⁶⁵⁻⁶⁷⁾.

他にも, NSPs変異体の人工的な進化⁶⁸⁾ や, 宿主免疫を抑制する因子の利用^{69, 70)}, 温度感受性変異体による自己増幅RNAの除去制御⁷¹⁾ といった多様な改変が試みられている. 自己増幅RNAは, RNAの安定性や持続性の低さといった課題を一気に解決できる可能性を秘めており, 今後最もホットなモダリティとなりえる.

4) ランタン型RNA

生体分子を材料としたナノテクノロジーの分野において, RNAからさまざまなナノスケールの形状を持つ構造体を構築する研究がなされてきた⁷²⁾. mRNAを使ってそのような立体的な球状構造体を作った例を紹介する. Huらは, 細胞に導入したい人工mRNAを, それに対して部分的に相補的な配列を持つ2本のステーブルRNAとハイブリダイズさせ, コンパクトな球状構造体「ナノランタン」を形成させた (図3d)⁷³⁾. 提灯の枠組みのようなその構造により血清中での安定性が増したが, mRNAとしての翻訳活性も維持された. ステーブルRNAには, 大腸がん細胞で過剰発現している受容体に対して結合するRGDペプチドを付加した. マウスにおいて, ナノランタンはそのコンパクトな形状とRGDペプチドによって大腸がん細胞に取り込まれ, コードするSMAD4タンパク質による症状改善効果を示すことに成功した.

このナノランタンは裸のRNA分子として投与されていた. 人工mRNAを細胞内に導入するには脂質ナノ粒子 (lipid nanoparticle: LNP) と複合体を形成させることが多いが, 構造によってはRNA単体でも導入できるというのは興味深い. 心臓の細胞に対して人工mRNAが裸のまま効率的に導入できることが知られているが^{74, 75)}, そのようなケースでナノランタン化によるさらなる導入効率の向上はみられるのであろうか.

また, ステーブルRNAに新たな機能を持たせることも可能かもしれない. たとえば, 特定のタンパク質に結合するRNAアプタマー配列を導入することで細胞内局在を制御する. ステーブルRNAが特定の内在性RNA分子とハイブリダイズすることでmRNAをより弛緩した構造へと変換させて翻訳を促進させる, あるいは強固な二次構造を形成させて翻訳を抑制する, といった制御が考えられる. 今後の展開に期待したい.

5) マイクロRNA応答性ONスイッチ

最後に我々のグループが開発した, 新たなRNA構造を利用したタンパク質翻訳制御系を紹介したい. 藤田は, RNAのポリAテールのさらに下流に非ポリA配列を付加することでタンパク質発現が抑制されることを見だし, これを利用してマイクロRNA応答性ONスイッチを開発した⁷⁶⁾. これは, ポリA鎖の直下に任意のマイクロRNAの標的配列 (完全相補配列), さらにその下流に翻訳を抑制するための付加配列を持つ (図4a). 標的マイクロRNAが存在しない場合には, 3'末端の付加配列によって翻訳が

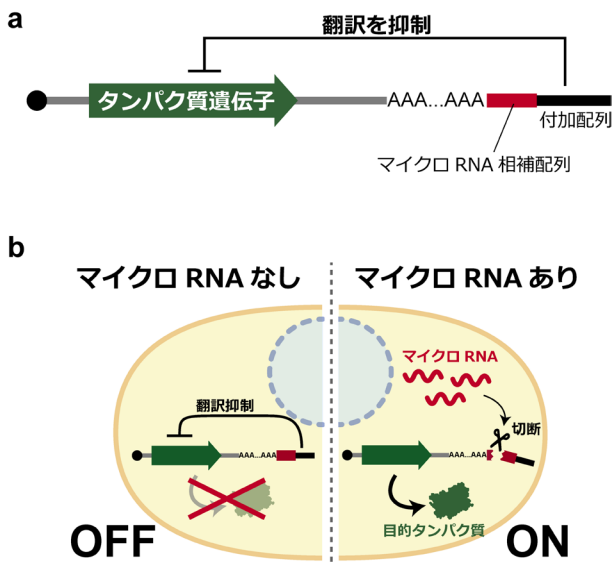


図4 マイクロRNA応答性ONスイッチ
(a)マイクロRNA応答性ONスイッチは、通常のmRNAのポリAテールのさらに下流に、任意のマイクロRNAに対する相補配列とさらなる付加配列を持つ。(b)マイクロRNAが存在しない場合には、付加配列により翻訳が阻害され、コードしているタンパク質の発現が抑制される (OFF状態, 左)。マイクロRNAが存在する場合には、相補配列部位でのRNA切断が起こり、付加配列が除去される。それによって翻訳反応が起こり、タンパク質が発現する (ON状態, 右)。

抑制されタンパク質は発現しない (OFF)。一方で、標的マイクロRNAが存在すると、マイクロRNAにより標的配列部で切断が起こり、付加配列が除去され、翻訳が開始される (ON) (図4b)。したがって、特定のマイクロRNAが発現している細胞でのみ外来遺伝子を発現させることができる。外来遺伝子として細胞死誘導タンパク質を利用すれば、マイクロRNAプロファイルに基づいて目的細胞を選別するといった応用が可能である。しかしながら、付加配列による翻訳抑制は完全なものではなく、OFF状態でも一定量のタンパク質が発現してしまう。より精密で使いやすい遺伝子発現制御系の確立を目指して、付加配列による翻訳抑制メカニズムの解明とONスイッチの改良を現在進めている。

4. おわりに

タンパク質はあらゆる生命現象をつかさどっている。ゆえに、そのタンパク質を発現させることが可能なmRNAにもあらゆることができるはずである。実際に人工mRNAの応用範囲は、感染症ワクチン、がんワクチン、遺伝子治療、ゲノム編集、CAR-T細胞療法など拡大の一途をたどっている。この急速な発展を支えているのは、既存のmRNA研究、免疫学、ウイルス学、核酸工学、有機化学、合成生物学といった幅広い分野における成果である。本稿ではふれなかったが、mRNAの合成法や精製法、標的細胞への送達法などの技術開発も重要な役割を果たしてき

た。今後、人工mRNAの活躍の範囲がどこまで広がるのか、あるいは広げることができるのか、さまざまな分野の研究者による挑戦を心より期待している。

余談ではあるが、本稿で紹介した人工的なmRNA改変のいくつかは、生物が採用していてもおかしくないと感じる。たとえば、非天然のキャップ構造のいくつかや分岐状mRNA、ポリAテールより下流の制御配列などは、既存の生化学反応によって (あるいはそれを少し変更することで) それほどの困難なく合成できるように思える。ではなぜ生物はこれらを使っていないのだろうか? そもそも本当に生物には存在しないのだろうか? あるいは生物進化の歴史上一度も存在しなかったのだろうか? 人工mRNAの発展から得られるこのような視点が、生物が利用しているRNAシステムをより深く理解する一助となるかもしれない。

謝辞

本稿で紹介した研究を実施した研究室メンバーの遠藤慧博士 (現東京大学)、藤田祥彦博士、亀田重賢博士、赤峰冨氏、林香倫氏、望月めぐみ氏に感謝申し上げます。また、筆者らの研究は科研費 (20H05626; 20H05701; 20K12644)、AMED (22bm0104001; 23bm1223002h0002)、iPS細胞研究基金 (京都大学iPS細胞研究所)、稲盛財団よりサポートいただいております。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Burnett, J.C. & Rossi, J.J. (2012) RNA-based therapeutics: Current progress and future prospects. *Chem. Biol.*, **19**, 60–71.
- 2) Kariko, K., Buckstein, M., Ni, H., & Weissman, D. (2005) Suppression of RNA recognition by Toll-like receptors: The impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA. *Immunity*, **23**, 165–175.
- 3) Kariko, K., Muramatsu, H., Welsh, F.A., Ludwig, J., Kato, H., Akira, S., & Weissman, D. (2008) Incorporation of pseudouridine into mRNA yields superior nonimmunogenic vector with increased translational capacity and biological stability. *Mol. Ther.*, **16**, 1833–1840.
- 4) Sahin, U., Kariko, K., & Tureci, O. (2014) mRNA-based therapeutics—Developing a new class of drugs. *Nat. Rev. Drug Discov.*, **13**, 759–780.
- 5) Vallazza, B., Petri, S., Poleganov, M.A., Eberle, F., Kuhn, A.N., & Sahin, U. (2015) Recombinant messenger RNA technology and its application in cancer immunotherapy, transcript replacement therapies, pluripotent stem cell induction, and beyond. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*, **6**, 471–499.
- 6) Collén, A., Berghem, N., Carlsson, L., Chien, K.R., Hoge, S., Gan, L.M., & Fritsche-Danielson, R. (2022) mRNA for regenerative treatment of heart failure. *Nat. Rev. Drug Discov.*, **21**, 79–80.
- 7) Warren, L., Manos, P.D., Ahfeldt, T., Loh, Y.H., Li, H., Lau, F., Ebina, W., Mandal, P.K., Smith, Z.D., Meissner, A., et al. (2010) Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. *Cell Stem Cell*, **7**, 618–630.

- 8) Poleganov, M.A., Eminli, S., Beissert, T., Herz, S., Moon, J.I., Goldmann, J., Beyer, A., Heck, R., Burkhart, I., Roldan, D.B., et al. (2015) Efficient reprogramming of human fibroblasts and blood-derived endothelial progenitor cells using nonmodified RNA for reprogramming and immune evasion. *Hum. Gene Ther.*, **26**, 751–766.
- 9) Li, D.Q., Liu, C., Li, Y.Z., Tenchov, R., Sasso, J.M., Zhang, D., Li, D., Zou, L.X., Wang, X.Z., & Zhou, Q.Q. (2023) Messenger RNA-based therapeutics and vaccines: What's beyond COVID-19? *ACS Pharmacol. Transl. Sci.*, **6**, 943–969.
- 10) Luan, X.H., Wang, L., Song, G.J., & Zhou, W. (2024) Innate immune responses to RNA: Sensing and signaling. *Front. Immunol.*, **15**, 1287940.
- 11) Andries, O., Mc Cafferty, S., De Smedt, S.C., Weiss, R., Sanders, N.N., & Kitada, T. (2015) N(1)-methylpseudouridine-incorporated mRNA outperforms pseudouridine-incorporated mRNA by providing enhanced protein expression and reduced immunogenicity in mammalian cell lines and mice. *J. Control. Release*, **217**, 337–344.
- 12) Arango, D., Sturgill, D., Alhusaini, N., Dillman, A.A., Sweet, T.J., Hanson, G., Hosogane, M., Sinclair, W.R., Nanan, K.K., Mandler, M.D., et al. (2018) Acetylation of cytidine in mRNA promotes translation efficiency. *Cell*, **175**, 1872–1886.
- 13) Dhurbachandra Singh, C., Morshed Alom, K., Kumar Kannan, D., Simander Singh, T., Samantaray, S., Siddappa Ravi Kumara, G., & Jun Seo, Y. (2023) mRNA incorporation of C(5)-halogenated pyrimidine ribonucleotides and induced high expression of corresponding protein for the development of mRNA vaccine. *Bioorg. Chem.*, **141**, 106897.
- 14) Zhang, M., Singh, N., Ehmann, M.E., Zheng, L., & Zhao, H. (2023) Incorporation of noncanonical base Z yields modified mRNA with minimal immunogenicity and improved translational capacity in mammalian cells. *iScience*, **26**, 107739.
- 15) Stepinski, J., Waddell, C., Stolarski, R., Darzynkiewicz, E., & Rhoads, R.E. (2001) Synthesis and properties of mRNAs containing the novel “anti-reverse” cap analogs 7-methyl(3'-O-methyl)GpppG and 7-methyl(3'-deoxy)GpppG. *RNA*, **7**, 1486–1495.
- 16) Shanmugasundaram, M., Senthilvelan, A., & Kore, A.R. (2022) Recent advances in modified cap analogs: Synthesis, biochemical properties, and mRNA based vaccines. *Chem. Rec.*, **22**, e202200005.
- 17) Warminski, M., Sikorski, P.J., Warminska, Z., Lukaszewicz, M., Kropiwnicka, A., Zuberek, J., Darzynkiewicz, E., Kowalska, J., & Jemielity, J. (2017) Amino-functionalized 5' cap analogs as tools for site-specific sequence-independent labeling of mRNA. *Bioconjug. Chem.*, **28**, 1978–1992.
- 18) Mamot, A., Sikorski, P.J., Warminski, M., Kowalska, J., & Jemielity, J. (2017) Azido-functionalized 5' cap analogues for the preparation of translationally active mRNAs suitable for fluorescent labeling in living cells. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **56**, 15628–15632.
- 19) Klöcker, N., Weissenboeck, F.P., van Dülmen, M., Spacek, P., Hüwel, S., & Rentmeister, A. (2022) Photocaged 5' cap analogues for optical control of mRNA translation in cells. *Nat. Chem.*, **14**, 905–913.
- 20) Bollu, A., Schepers, H., Klöcker, N., Erguven, M., Lawrence-Dörner, A.M., & Rentmeister, A. (2024) Visible light activates coumarin-caged mRNA for cytoplasmic cap methylation in cells. *Chemistry*, **30**, e202303174.
- 21) Inagaki, M., Abe, N., Li, Z.M., Nakashima, Y., Acharyya, S., Ogawa, K., Kawaguchi, D., Hiraoka, H., Banno, A., Meng, Z.Y., et al. (2023) Cap analogs with a hydrophobic photocleavable tag enable facile purification of fully capped mRNA with various cap structures. *Nat. Commun.*, **14**, 2657.
- 22) Fuchs, A.L., Neu, A., & Sprangers, R. (2016) A general method for rapid and cost-efficient large-scale production of 5' capped RNA. *RNA*, **22**, 1454–1466.
- 23) Ohno, H., Akamine, S., Mochizuki, M., Hayashi, K., Akichika, S., Suzuki, T., & Saito, H. (2023) Versatile strategy using vaccinia virus-capping enzyme to synthesize functional 5' cap-modified mRNAs. *Nucleic Acids Res.*, **51**, e34.
- 24) Chan, S.H., Mole, C.N., Nye, D., Mitchell, L., Dai, N., Buss, J., Kneller, D.W., Whipple, J.M., & Robb, G.B. (2023) Biochemical characterization of mRNA capping enzyme from Faustovirus. *RNA*, **29**, 1803–1817.
- 25) Mignone, F., Gissi, C., Liuni, S., & Pesole, G. (2002) Untranslated regions of mRNAs. *Genome Biol.*, **3**, REVIEWS0004.
- 26) Mazumder, B., Seshadri, V., & Fox, P.L. (2003) Translational control by the 3'-UTR: The ends specify the means. *Trends Biochem. Sci.*, **28**, 91–98.
- 27) Leppek, K., Das, R., & Barna, M. (2018) Functional 5' UTR mRNA structures in eukaryotic translation regulation and how to find them. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **19**, 673–673.
- 28) von Niessen, A.G.O., Poleganov, M.A., Rechner, C., Plaschke, A., Kranz, L.M., Fesser, S., Diken, M., Löwer, M., Vallazza, B., Beissert, T., et al. (2019) Improving mRNA-based therapeutic gene delivery by expression-augmenting 3' UTRs identified by cellular library screening. *Mol. Ther.*, **27**, 824–836.
- 29) Chu, Y.Y., Yu, D., Li, Y.P., Huang, K.X., Shen, Y., Cong, L., Zhang, J.S., & Wang, M.D. (2024) A 5' UTR language model for decoding untranslated regions of mRNA and function predictions. *Nat. Mach. Intell.*, **6**, 449–460.
- 30) Tusup, M., French, L.E., De Matos, M., Gatfield, D., Kundig, T., & Pascolo, S. (2019) Design of in vitro transcribed mRNA vectors for research and therapy. *Chimia (Aarau)*, **73**, 391–394.
- 31) Mamaghani, S., Penna, R.R., Frei, J., Wyss, C., Mellett, M., Look, T., Weiss, T., Guenova, E., Kuendig, T.M., Lauchli, S., et al. (2024) Synthetic mRNAs containing minimalistic untranslated regions are highly functional in vitro and in vivo. *Cells*, **13**, 1242.
- 32) Ohno, H., Akamine, S., & Saito, H. (2020) Synthetic mRNA-based systems in mammalian cells. *Adv. Biosyst.*, **4**, e1900247.
- 33) Ono, H. & Saito, H. (2023) Sensing intracellular signatures with synthetic mRNAs. *RNA Biol.*, **20**, 588–602.
- 34) Bartel, D.P. (2004) MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, **116**, 281–297.
- 35) Miki, K., Endo, K., Takahashi, S., Funakoshi, S., Takei, I., Katayama, S., Toyoda, T., Kotaka, M., Takaki, T., Umeda, M., et al. (2015) Efficient detection and purification of cell populations using synthetic microRNA switches. *Cell Stem Cell*, **16**, 699–711.
- 36) Griffiths-Jones, S., Grocock, R.J., van Dongen, S., Bateman, A., & Enright, A.J. (2006) miRBase: MicroRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Res.*, **34**, D140–D144.
- 37) Kosik, K.S. (2010) MicroRNAs and cellular phenotypy. *Cell*, **143**, 21–26.
- 38) Ludwig, N., Leidinger, P., Becker, K., Backes, C., Fehlmann, T., Pallasch, C., Rheinheimer, S., Meder, B., Stahler, C., Meese, E., et al. (2016) Distribution of miRNA expression across human tissues. *Nucleic Acids Res.*, **44**, 3865–3877.
- 39) Brook, B., Duval, V., Barman, S., Speciner, L., Sweitzer, C., Khanmohammed, A., Menon, M., Foster, K., Ghosh, P., Abedi, K., et al. (2024) Adjuvantation of a SARS-CoV-2 mRNA vaccine with controlled tissue-specific expression of an mRNA en-

- coding IL-12p70. *Sci. Transl. Med.*, **16**, eadm8451.
- 40) Bicknell, A.A., Reid, D.W., Licata, M.C., Jones, A.K., Cheng, Y.M., Li, M., Hsiao, C.J., Pepin, C.S., Metkar, M., Levdansky, Y., et al. (2024) Attenuating ribosome load improves protein output from mRNA by limiting translation-dependent mRNA decay. *Cell Rep.*, **43**, 114098.
 - 41) Mauger, D.M., Cabral, B.J., Presnyak, V., Su, S.V., Reid, D.W., Goodman, B., Link, K., Khatwani, N., Reynders, J., Moore, M.J., et al. (2019) mRNA structure regulates protein expression through changes in functional half-life. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 24075–24083.
 - 42) Leppek, K., Byeon, G.W., Kladwang, W., Wayment-Steele, H.K., Kerr, C.H., Xu, A.F., Kim, D.S., Topkar, V.V., Choe, C., Rothschild, D., et al. (2022) Combinatorial optimization of mRNA structure, stability, and translation for RNA-based therapeutics. *Nat. Commun.*, **13**, 1536.
 - 43) Zhang, H., Zhang, L., Lin, A., Xu, C.C., Li, Z.Y., Liu, K.B., Liu, B.X., Ma, X.P., Zhao, F.F., Jiang, H.L., et al. (2023) Algorithm for optimized mRNA design improves stability and immunogenicity. *Nature*, **621**, 396–403.
 - 44) Garneau, N.L., Wilusz, J., & Wilusz, C.J. (2007) The highways and byways of mRNA decay. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **8**, 113–126.
 - 45) Gampe, C., White, A.C.S., Siva, S., Zecri, F., & Diener, J. (2018) 3'-Modification stabilizes mRNA and increases translation in cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **28**, 2451–2453.
 - 46) Anhauser, L., Huwel, S., Zobel, T., & Rentmeister, A. (2019) Multiple covalent fluorescence labeling of eukaryotic mRNA at the poly(A) tail enhances translation and can be performed in living cells. *Nucleic Acids Res.*, **47**, e42.
 - 47) Strzelecka, D., Smietanski, M., Sikorski, P.J., Warminski, M., Kowalska, J., & Jemielity, J. (2020) Phosphodiester modifications in mRNA poly(A) tail prevent deadenylation without compromising protein expression. *RNA*, **26**, 1815–1837.
 - 48) Aditham, A., Shi, H.L., Guo, J.T., Zeng, H., Zhou, Y.M., Wade, S.D., Huang, J.H., Liu, J., & Wang, X. (2022) Chemically modified mocRNAs for highly efficient protein expression in mammalian cells. *ACS Chem. Biol.*, **17**, 3352–3366.
 - 49) Abe, N., Abe, H., & Ito, Y. (2007) Dumbbell-shaped nanocircular RNAs for RNA interference. *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 15108–15109.
 - 50) Litke, J.L. & Jaffrey, S.R. (2019) Highly efficient expression of circular RNA aptamers in cells using autocatalytic transcripts. *Nat. Biotechnol.*, **37**, 667–675.
 - 51) Wesselhoeft, R.A., Kowalski, P.S., & Anderson, D.G. (2018) Engineering circular RNA for potent and stable translation in eukaryotic cells. *Nat. Commun.*, **9**, 2629.
 - 52) Wesselhoeft, R.A., Kowalski, P.S., Parker-Hale, F.C., Huang, Y., Bisaria, N., & Anderson, D.G. (2019) RNA circularization diminishes immunogenicity and can extend translation duration in vivo. *Mol. Cell*, **74**, 508–520 e504.
 - 53) Cui, J., Zhang, L., Zhang, Z., Luo, X., Liu, Y., Li, C., Huang, W., Zou, L., Yu, X., & Xiao, F. (2023) A precise and efficient circular RNA synthesis system based on a ribozyme derived from *Tetrahymena thermophila*. *Nucleic Acids Res.*, **51**, e78.
 - 54) Lee, K.H., Kim, S., Song, J.H., Han, S.R., Kim, J.H., & Lee, S.W. (2023) Efficient circular RNA engineering by end-to-end self-targeting and splicing reaction using group I intron ribozyme. *Mol. Ther. Nucleic Acids*, **33**, 587–598.
 - 55) Chen, R., Wang, S.K., Belk, J.A., Amaya, L., Li, Z., Cardenas, A., Abe, B.T., Chen, C.K., Wender, P.A., & Chang, H.Y. (2023) Engineering circular RNA for enhanced protein production. *Nat. Biotechnol.*, **41**, 262–272.
 - 56) Kameda, S., Ohno, H., & Saito, H. (2023) Synthetic circular RNA switches and circuits that control protein expression in mammalian cells. *Nucleic Acids Res.*, **51**, e24.
 - 57) Chen, H., Liu, D., Guo, J., Aditham, A., Zhou, Y., Tian, J., Luo, S., Ren, J., Hsu, A., Huang, J., et al. (2024) Branched chemically modified poly(A) tails enhance the translation capacity of mRNA. *Nat. Biotechnol.*
 - 58) Papukashvili, D., Rcheulishvili, N., Liu, C., Ji, Y., He, Y., & Wang, P.G. (2022) Self-amplifying RNA approach for protein replacement therapy. *Int. J. Mol. Sci.*, **23**, 12884.
 - 59) Comes, J.D.G., Pijlman, G.P., & Hick, T.A.H. (2023) Rise of the RNA machines—self-amplification in mRNA vaccine design. *Trends Biotechnol.*, **41**, 1417–1429.
 - 60) Blakney, A.K., Ip, S., & Geall, A.J. (2021) An update on self-amplifying mRNA vaccine development. *Vaccines (Basel)*, **9**, 97.
 - 61) Dolgin, E. (2023) Self-copying RNA vaccine wins first full approval: What's next? *Nature*, **624**, 236–237.
 - 62) Yoshioka, N., Gros, E., Li, H.R., Kumar, S., Deacon, D.C., Maron, C., Muotri, A.R., Chi, N.C., Fu, X.D., Yu, B.D., et al. (2013) Efficient generation of human iPSCs by a synthetic self-replicative RNA. *Cell Stem Cell*, **13**, 246–254.
 - 63) Yoshioka, N. & Dowdy, S.F. (2017) Enhanced generation of iPSCs from older adult human cells by a synthetic five-factor self-replicative RNA. *PLoS One*, **12**, e0182018.
 - 64) McGee, J.E., Kirsch, J.R., Kenney, D., Cerbo, F., Chavez, E.C., Shih, T.Y., Douam, F., Wong, W.W., & Grinstaff, M.W. (2024) Complete substitution with modified nucleotides in self-amplifying RNA suppresses the interferon response and increases potency. *Nat. Biotechnol.*
 - 65) Blakney, A.K., McKay, P.F., & Shattock, R.J. (2018) Structural components for amplification of positive and negative strand VEEV splitzicons. *Front. Mol. Biosci.*, **5**, 71.
 - 66) Beissert, T., Perkovic, M., Vogel, A., Erbar, S., Walzer, K.C., Hempel, T., Brill, S., Haefner, E., Becker, R., Türeci, Ö., et al. (2020) A trans-amplifying RNA vaccine strategy for induction of potent protective immunity. *Mol. Ther.*, **28**, 119–128.
 - 67) Perkovic, M., Gawletta, S., Hempel, T., Brill, S., Nett, E., Sahin, U., & Beissert, T. (2023) A trans-amplifying RNA simplified to essential elements is highly replicative and robustly immunogenic in mice. *Mol. Ther.*, **31**, 1636–1646.
 - 68) Li, Y., Teague, B., Zhang, Y., Su, Z., Porter, E., Dobosh, B., Wagner, T., Irvine, D.J., & Weiss, R. (2019) In vitro evolution of enhanced RNA replicons for immunotherapy. *Sci. Rep.*, **9**, 6932.
 - 69) Blakney, A.K., McKay, P.F., Bouton, C.R., Hu, K., Samnuan, K., & Shattock, R.J. (2021) Innate inhibiting proteins enhance expression and immunogenicity of self-amplifying RNA. *Mol. Ther.*, **29**, 1174–1185.
 - 70) Dominguez, F., Palchevska, O., Frolova, E.I., & Frolov, I. (2023) Alphavirus-based replicons demonstrate different interactions with host cells and can be optimized to increase protein expression. *J. Virol.*, **97**, e0122523.
 - 71) Amano, T., Yu, H., Amano, M., Leyder, E., Badiola, M., Ray, P., Kim, J., Ko, A.C., Achour, A., Weng, N.P., et al. (2023) Controllable self-replicating RNA vaccine delivered intradermally elicits predominantly cellular immunity. *iScience*, **26**, 106335.
 - 72) Ohno, H., Akamine, S., & Saito, H. (2019) RNA nanostructures and scaffolds for biotechnology applications. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **58**, 53–61.
 - 73) Hu, M., Feng, C., Yuan, Q., Liu, C., Ge, B., Sun, F., & Zhu, X.

- (2023) Lantern-shaped flexible RNA origami for Smad4 mRNA delivery and growth suppression of colorectal cancer. *Nat. Commun.*, **14**, 1307.
- 74) Sultana, N., Magadam, A., Hadas, Y., Kondrat, J., Singh, N., Youssef, E., Calderon, D., Chepurko, E., Dubois, N., Hajjar, R.J., et al. (2017) Optimizing cardiac delivery of modified mRNA. *Mol. Ther.*, **25**, 1306–1315.
- 75) Kaur, K., Hadas, Y., Kurian, A.A., Zak, M.M., Yoo, J., Mahmood, A., Girard, H., Komargodski, R., Io, T., Santini, M.P., et al. (2021) Direct reprogramming induces vascular regeneration post muscle ischemic injury. *Mol. Ther.*, **29**, 3042–3058.
- 76) Fujita, Y., Hirose, M., Hayashi, K., Hatani, T., Yoshida, Y., Yamamoto, T., & Saito, H. (2022) A versatile and robust cell purification system with an RNA-only circuit composed of microRNA-responsive ON and OFF switches. *Sci. Adv.*, **8**, eabj1793.

著者寸描

●大野 博久 (おおの ひろひさ)

京都大学iPS細胞研究所 特定拠点助教. 博士 (生命科学).

■略歴 2011年京都大学大学院生命科学研究科博士後期課程修了. JST ICORP 研究員, 京都大学大学院生命科学研究科研究員, 京都大学iPS細胞研究所特定研究員を経て, 19年より現職.

■研究テーマと抱負 現在の主な研究テーマは医療応用のための有用な人工mRNA技術の開発. 分子の化学構造から生体高分子の三次構造, 遺伝子回路のような分子系まで, 様々なレベルでの「設計して作る」を通じて生物の可能性を拡張したい.

■趣味 山登り, 岩登り, (子供のための) トイカー収集.

●齊藤 博英 (さいとう ひろひで)

京都大学iPS細胞研究所 教授/東京大学定量生命科学研究科 教授. 博士 (工学) (東京大学).

■略歴 1997年東京大学工学部卒業, 2002年同大学院工学系研究科博士課程修了, 博士 (工学). 学振特別研究員SPD, CREST研究員, 京都大学大学院生命科学研究科助手を経て07年助教, 科学技術振興機構 (JST) ICORPグループリーダーとなる. 10年京都大学白眉センター特定准教授. 14年から現職, 京都大学iPS細胞研究所教授. 24年より東京大学定量生命科学研究科教授 (京都大学教授を兼任).

■研究テーマと抱負 RNA・RNPを基盤とする合成生命システム創成についての研究を行っている.

■ウェブサイト https://www.cira.kyoto-u.ac.jp/j/research/hsaito_summary.html

■趣味 マラソン.