

東工大でのメッセンジャー RNA 化学合成の歴史

mRNA ワクチンの基礎から核酸医薬開発の基盤を築くまでの道のり

寄稿： 関根光雄 名誉教授

(1972 化学, 77 Dr, 77 助手, 88 講師, 89 助教授, 99 教授, 2015 生命理工定年)

今回は、今話題の mRNA ワクチンに深く関わる「mRNA の 5'-末端にある Cap 構造」を世界で初めて化学合成することに成功した東工大チームの紹介です。執筆者は当初から研究に関わった関根光雄 名誉教授です。mRNA は鎖状分子ですが、その両端は加工され、まるで帽子をかぶり長い尻尾を持ったようになっています：頭部（5'-末端）の構造を 5'-Cap, 尻尾（3'-末端）の構造を Poly(A) tail と呼んでいます。両端が修飾されることにより、mRNA の安定性は増し、核内から細胞質に移ってリボソーム上で効率よくタンパク質を合成できるようになります。この 5'-Cap 構造に関しては、激しい研究競争の末、分解産物の分析から「恐らくこうだろう」という構造が推定されましたが、確定するには実際に化学合成で確かめる必要があります。有機合成化学的手法により、最終証明に成功した関根さんたちの取組みを語ってもらうことにしましょう。その試みは核酸医薬開発の起点としても歴史に刻まれています。

1. 始まりは帽子をかぶった RNA 分子との出会い

はじめに

中国重慶で新型コロナウイルスが突然出現してから、もう2年以上も経ってもその変異株が相変わらず世界中で猛威をふるっている。この今世紀最大とも言える人類の危機を回避しようと、新薬やワクチンの開発が盛んに行われている。その中で、新しいワクチンの有効成分としてメッセンジャー RNA (mRNA) が大きな注目を集めているのは周知の通りである。この核酸が世の中に役に立っていることを見るにつけ、東工大を退職してから重い腰をあげて、この核酸について東工大の貢献について

て書き留めておくべきかと、遅まきながら筆をとることにした。

東工大の教育改革と mRNA ワクチン

私が在職中の最後の仕事として、三島良直 元学長のもと理事・副学長や部長が集められ教育改革について様々な提案を議論し、東工大の1年生のすべてに「生物」を履修してもらう方針を決めたことがあった。一見生物とは無関係と思われる学部学科には、反対意見も多々あったが、本学の教育の見本となったマサチューセッツ工科大学でも学部学生全員が生物学を履修していることもあり、将来生物の知識が専門外でも何らかの役にたつことを期待して、導入した教育改革の一つでもあった。そんなことを、ふと思い出した。

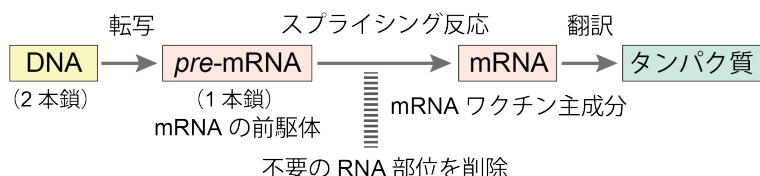
今本学に在籍している学部学生さん

たちは、建築科や機械工学科であろうと、この mRNA がニュース報道で、ワクチンとして活用されていることを聞いたならば、皆この物質がどんな役割をしているか理解しているだろうと推察している。他大学の学生さんでは、こうはいかないだろう。

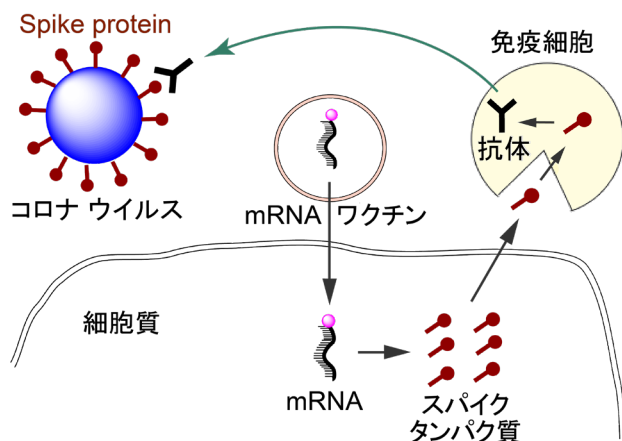
人類が被る自然災害とも言えるコロナウイルス感染に対しては、建築や機械工学の分野でも何らかの形で関与できる可能性がある。コロナウイルス感染の仕組みが分かれば建築物の換気法も変わるだろうし、ワクチン製造の迅速製造法も機械工学に関係してくる。mRNA という核酸の知識があれば、それぞれの分野で具体的にどのように工夫したらよいか、新しい閃きが誰よりも先にでてくるかもしれない。この生物の授業を導入した教育システムの改革は正に役に立っているという現実をみた気がする。



関根 光雄



① DNA からタンパク質への情報の流れ。



② mRNA ワクチンの原理。従来のワクチンでは、抗原となるタンパク質（ここではスパイク・タンパク質）そのものを接種していたが、mRNA ワクチンでは抗原タンパク質の mRNA を人工合成し、それを接種することにより体内で抗原タンパク質を作らせる。

免疫反応による炎症反応も抑制できタンパク質が効率よく細胞内で合成されることがわかっている。この知見は、独バイオ企業ビオンテック社の現上級副社長であるハンガリー出身のカタリン・カリコ博士が見出したものである。

以上は、本学「生物学」の学部1年生レベルの mRNA の簡易な解説である。さて、それがほんのりとも理解できれば、次に mRNA のキャップ構造の発見物語に移ろう。

mRNA とはどのようなもの？

教育改革はさておき、「mRNA とは一体どのようなものなのか」から話しを進めよう。このものは、いわゆる核酸の一種で、生物の細胞内で DNA の遺伝情報がタンパク質となるとき、仲介役となる重要な物質である。もう少し詳しく言い換えると、DNA から一旦 pre-mRNA というものができ、その後、スプライシング反応が起こり pre-mRNA 中の不要な部分が削除され、より短鎖の成熟した分子になる（図①）。これが mRNA である。この mRNA の塩基配列情報に従ってタンパク質が作られるのである。

コロナウイルスの粒子表面にあるスパイクタンパク質というものが、ウイルスがヒトの細胞に感染するとき必要になるが、このスパイク・タンパク質を作りワクチンに含ませれば、この一部の成分に対して生体内の免疫防御システムが働き抗体という物質ができて、本物のコロナウイルスがやってきたときに結合することで、感染が防げる仕組みになっている（図②）。この一連の流れは旧来法のワクチン防御システムである。

新たに開発された mRNA ワクチンは、スパイク・タンパク質も、もともと mRNA からできるので、代わりにワクチンの中にこの mRNA を導入したものである。（注1）ヒトにこのワクチンを投与すると、細胞内で mRNA から自動的にスパイク・タンパク質を作り出すというものである。ひとつの mRNA から、数百～数千個のスパイク・タンバ

ク質が合成されるので、mRNA が存在するかぎり、極めて効率的にワクチン成分として有効なスパイク・タンパク質が作り出されるというわけである。

というわけで、沢山のスパイク・タンパク質が一つの mRNA から合成されるので、ワクチンの中に組み込む mRNA の量もかなり少なくて済む。ファイザー社製も、モデルナ社製のワクチンも mRNA 量は、実質 30～100 マイクログラムという微量で、しかも1回の筋肉注射でよい。DNA → pre-mRNA → mRNA → タンパク質（図①）という情報の流れをうまく使って、必要なタンパク質の mRNA をワクチンに組み込むことで mRNA 接種によってできた抗体が無くなるまでワクチン効果がつづくということである。

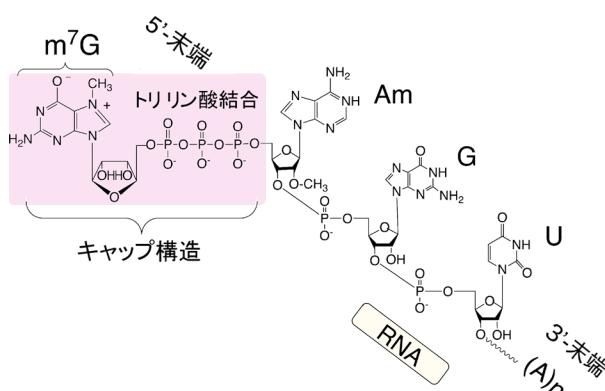
現在の mRNA ワクチンには、もうひとつ工夫が凝らされている。それは、この RNA 分子には AUGC という4つの塩基が含まれているが、U の塩基の代わりにシュードウリジン（Ψ）や N¹-メチルシュードウリジン（m¹Ψ）といういわゆる修飾塩基が導入されている。

（注1）このような修飾を施すと、体内の

mRNA のキャップ（Cap）構造の発見と東工大の関わり

この mRNA なる分子は DNA の一部の連続した塩基配列をもった核酸の一種である。mRNA は、DNA と2箇所鎖の構造が違うだけで、よく似ているが、DNA ほど安定ではない。この mRNA が当初その存在が確認されたときには、その核酸構造の両末端（5'-と3'-末端と呼んでいる）については未知であったが、3'-末端は塩基としてアデニン（A）を有するアデノシン・ヌクレオチドがポリマー状に並んでいる構造であった。

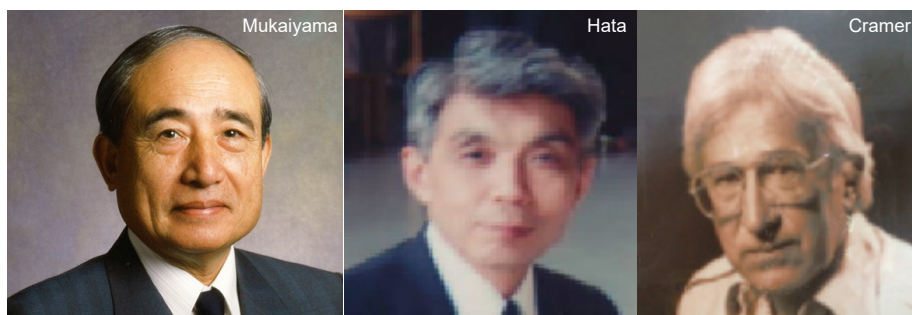
一方の 5'-末端については、当時三島市にあった国立遺伝学研究所の三浦謹一郎先生の研究室でカイコ多角体病ウイルスの mRNA を用いて精力的に研究が行われていた。その結果、このウイルスの mRNA の 5'-末端構造が、いわゆるキャップ構造と呼ばれるものであることがわかった（図③）。（注2）ワトソン-クリックによる DNA 二重らせんの発見は世紀の大発見であることは、よく知られているが、この mRNA の 5'-末端構造の発見もそれに勝るとも劣らぬ大発見であった。



③ 三浦研究室で発見された mRNA の 5'-末端部位のキャップ構造。この構造は、発見当初は“Blocked and methylated terminal structure”と呼ばれていたが、言い易い Cap というニックネームが付けられ、それが正式名称として普及した。（A）_n はアデノシン-リン酸（アデニル酸）のポリマー。



④ キャップ構造を発見した3人の研究者。左から：三浦謹一郎（1931～2009）、古市泰宏（1940～2022）、Aaron J. Shatkin（1934～2012）。



⑤ 東工大とマックス・プランク研究所の核酸合成研究者。左から：向山光昭（1927～2018、1948化学卒、本学教授を経て1973東大教授、1997文化勲章）、畑辻明（1934～1996、1958学習院大化学卒、1963東工大化学Dr）、Friedrich Cramer（1923～2003）。

このキャップ構造の発見に直接たずさわった研究者としては、三浦研究室のスタッフであった古市泰宏先生（現(株)GF・Mille 最高顧問、新潟薬科大学客員教授）、米国ロシュ分子生物学研究所のシャトキン教授の3人である（図④）。古市先生は三浦研究室とシャトキン研究室の両方の研究室で研究に関わった方である。残念ながら、お三方ともすでにお亡くなりになってしまった。生きていたならば、3人でノーベル賞を受賞してもおかしくない大きな業績である。

このmRNAの5'-末端のキャップ構造発見については、古市先生が日本RNA学会のエッセイ「走馬灯の逆廻しエッセイ」第1話に大変詳しく書かれているので、ご覧いただければと思う。^{（注3）} また、コロナウイルスについても解説されていて、コロナ禍騒動の中、この記事はかなりの人たちが目を通され、かなり引用されている。大変貴重な一般向けのエッセイでもあるので、積極的に利用されるとよいと思う。

さて、mRNAと東工大の関係であるが、国立遺伝学研究所の三浦謹一郎先生との関わり合いから話を起こそう。当時、私は理学部化学科の卒研究生とし

て天然物化学研究施設の畑辻明先生（図⑤）の研究室に入り、大学院でも理工学研究科化学専攻の同じ研究室に所属していた。畑先生は、理学部化学科の向山光昭先生（図⑤）の学習院大学時代の最初のお弟子さんであって、私が畑研に卒研究生として入ったときには、当時理学部化学科に所属していた向山先生の研究室と一緒に研究会や雑誌会をやっていた。

畑先生は、向山研でリン酸エステル化の研究で博士号を取得し（1963年、翌年日本化学会進歩賞）、助手になったあとドイツのマックスプランク研究所のF. Cramer先生（図⑤）の研究室に留学され、リン酸化の反応についてさらに研鑽を積まれていた。核酸はリン酸エステル誘導体であったこともあり、帰国後天然物化学研究施設に研究室を立ち上げたあと、核酸合成の研究を本格的に開始しようとしていた。当時、向山研究室でもリン元素の特性（強力な脱酸素能）を活用した酸化還元系縮合剤が開発されていて、^{（注4）} 当時三共(株)から来られた橋本光紀さんが核酸のオリゴマー合成にも応用しようとしていた。また、畑先生と同期の石戸良治先生の

研究室では、糖化学を原点としてヌクレオシド類の合成研究が行われていた。核酸合成が本学の有機合成系の3研究室でまさに始まりつつあった。

また、畑先生は、横須賀市にある諏訪神社の跡取り息子でもあり、神主の資格をもつ今でいう“二刀流”の理学研究者でもあった。畑先生のお父様は、大正天皇に仕えていた宮司でもあり、三浦謹一郎先生の祖父は、明治天皇の侍医でもあり、畑先生と三浦先生はどちらも学習院出身の核酸化学を共通とした研究者であったことから、いつごろからお互いに出会ったか分からないが、よく畑研究室に三浦先生からお電話がかかってきたことがあった。

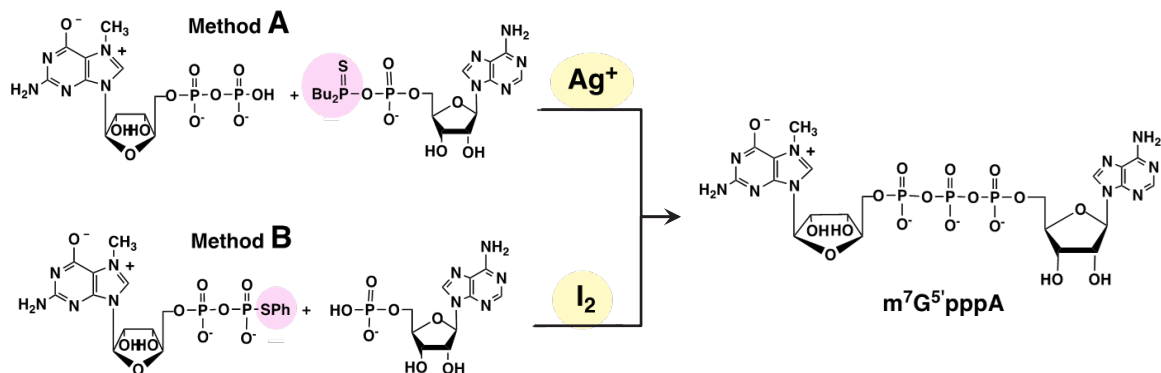
そのような、関係であったので、三浦先生がキャップ構造を発見されたとき、分子生物学的な解析から提案されたその構造を最終的に化学的な方法で確認したいとのことで、畑先生にカイコ多角体病ウイルスの5'-末端にある構造を化学的に合成したものと一致するかみてみたいとのことで、その合成を依頼してきた。これがことの始まりである。

2. 帽子の正体解明

mRNAの5'-末端部位のキャップ構造の合成

私が博士課程1年生のとき、第2回核酸化学シンポジウムという国内最大の核酸化学に関するシンポジウムが畑先生が主催者となって東工大大岡山キャンパスの南4号館2階の教室で開催された。このとき、初めて三浦謹一郎先生がキャップ構造の発見についてこれまでの研究成果をまとめて話された。私はそのとき、スライド係をしていて、核酸化学のこれまで蓄積されてきた知見に基づき、分子生物学のありとあらゆる解析手段を駆使して、最終的にこの構造であると確信に至った合理的な研究展開をみて大変感動した。

その頃、三浦先生からの依頼で、キャップ構造の基本的で最も単純な構



⑥ 畑研究室で開発されたキャップ構造の化学合成反応。

造 ($\text{m}^{2,2,7}\text{G}^5'\text{pppNu}$, $\text{Nu} = \text{G or A}$) を合成してほしいとの依頼がきた。当時畑研究室では、修士課程の学生であった古澤清孝 (現 繊維高分子材料研究所) さんによって、新しいリン酸化法として $\text{Bu}_2\text{P}(\text{S})$ P 基を銀イオンで活性化する方法が開発されていた。(注5) また、私が修士課程の学生であった頃に開発した PhS 基 (フェニルチオ基) をヨウ素や銀イオンで活性化する方法も使えるようになっていた。(注6) そこで、水溶性で取り扱いにくい核酸誘導体の合成に慣れていた畑研の技官であった中川巖さんがトリリン酸結合をもつキャップ構造の合成を検討することになり、まず $\text{Bu}_2\text{P}(\text{S})$ P 基を活性化する方法で $\text{m}^7\text{G}^5'\text{pppNu}$, $\text{Nu} = \text{G or A}$ (図⑥, Method A) が合成された。(注7) また、PhS 基活性化法でも同じキャップ構造が合成された (図⑥, Method B)。(注8) これらの合成は、東工大で開発された新規リン酸化反応が活用されたものであり、まさにオリジナリティ 100% のメイド イン ジャパンのものであった。



古澤清孝

山口和夫

中川巖

石川正英

福岡孝一郎

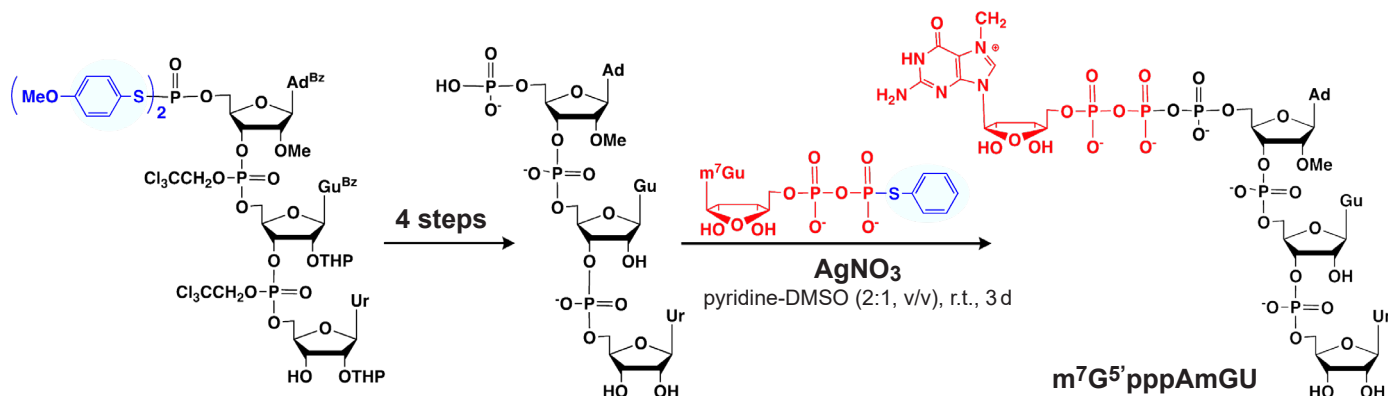
⑦ 畑研究室でキャップ構造の合成研究に貢献した研究者。

2つの新規合成反応によって作られた合成品は当時ペーパークロマトグラフィーの移動度やろ紙電気泳動の挙動で同定されていたこともあり、キャップ構造の裏付けとしてはやや不十分であった。そこで、念を押して、三浦先生が研究されていたカイコ多角体病ウイルスの mRNA の 5'-末端部位 ($\text{m}^7\text{G}^5'\text{pppAmGU}$) が合成できれば、最終的に天然由来のものと照合することによりキャップ構造の存在がさらに確かになるとのことで、当時2年後輩の山口和夫さん⑦ (現 神奈川大学 副学長) がその合成を担当することになった。この合成にも私の PhS 基の化学が活用さ

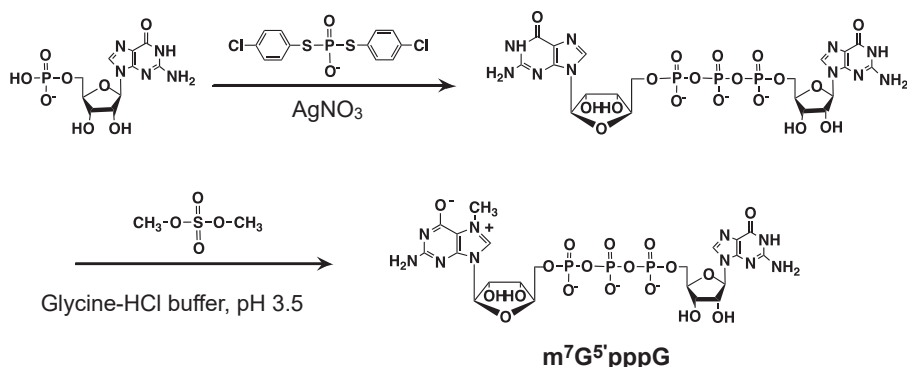
れ $\text{m}^7\text{G}^5'\text{pppAmGU}$ の合成が達成された (図⑧)。(注9) その結果、三浦先生の研究室でカイコ多角体病ウイルスの mRNA を酵素で分解して得られた標品と完全に一致することがわかった。この結果をみて、三浦先生も一安心されたに違いない。

その後の RNA 合成研究

この研究以降は、畑研究室で、キャップ構造を含む mRNA 誘導体の合成研究が精力的に行われた。とくに、私が畑研の助手になったあと、畑先生が研究代表者となった文部科学省の重点領域



⑧ カイコ多角体病ウイルスの mRNA の 5'-末端部位 ($\text{m}^7\text{G}^5'\text{pppAmGU}$) の化学合成。青色が PhS 基 (フェニルチオ基) とその誘導体。



⑨ キャップ構造の大量合成法。

研究「核酸の構造と機能の有機化学的展開 (1991～1995年)」という当時 第一線で活躍していた核酸化学の研究者を集結した研究プロジェクトが採択されたことが背景にあった。この研究期間中に、畑先生が文科省に、キャップ構造 m⁷G^{5'}pppG (図⑨) は、これまでマイクログラムしか合成することはできなかったが、これをグラム単位で合成できる技術を開発することをお約束した。

この開発は、私の後任の助手として東大工学部の三浦謹一郎先生の所で学位を取得した石川正英さん⑦(現埼玉工大教授)が畑研に着任され、当時博士課程の学生であった福岡孝一郎さん⑧、現大鵬薬品工業(株)と一緒に、図⑨に示す極めて簡便な実用性の高い新合成

法によって達成された。(注10) 忘れられないのは、プロジェクトの最終評価のとき、確かな証拠として、バイアル瓶のなかに 1 g 位の粉状の m⁷G^{5'}pppG を入れて目に見える形で評価委員会の審査員全員にお見せしたことである。現物をお見せすることによって、確かな評価を得ることができた。

これらの東工大で合成されたキャップ構造とそれを含む短鎖 RNA は、今日、mRNA コロナワクチンの合成のために最小の必要な部品でもあり、これらの部品をワクチン製造会社がどのように調達しているのかブラックボックスに隠れて目にはみえないが、大いに活用されているものと思われる。

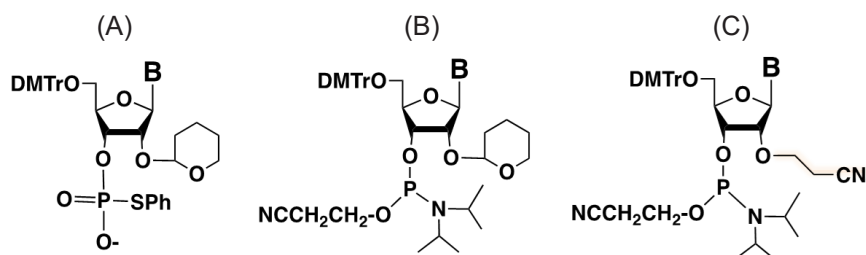
当時、キャップ構造のようにリン酸基が3つも連結されている水溶性の核酸誘導体の合成は、DNA や RNA のような核酸分子よりもさらに扱いにくく、よっぽどの変人でなければ、その合成に挑戦したいという気持ちがわからない厄介な物質であった。そんな中でも当時、この厄介ものの合成に挑戦した研究室がもうひとつ存在した。

それは、ポーランドのワルシャワ大学の Eddy Darzynkiewicz 教授の研究室であったが、畑研究室の方が早く初合成の論文を発表している。(注6) 数年前、ポーランドで核酸化学の国際会議があった際に、ワルシャワを訪問したとき、Darzynkiewicz 先生ご夫妻にとっても親切にいただいた。この先生は、キャップ構造を発見された1人のシャトキン先生の研究室に留学していたこともあり、古市先生とは親しい友人でもあった。

キャップ構造をもつ mRNA の化学合成の本格的研究の展開

キャップ構造をもつ mRNA の合成について畑研でその後つづいた研究についてここで話してみたい。まず、mRNA の本体部分である RNA 鎖の化学合成には、PhS 基をリン酸基の保護基として用いる合成ユニット(図⑩, A)を用いる新合成法(注9)が引き続き活用された。これは、AGCU の4種類の塩基をもつ RNA モノマーをユニットとして樹脂上で合成するもので、当時は、この合成法の範疇としては、最も合理的な合成法として評価されていた。

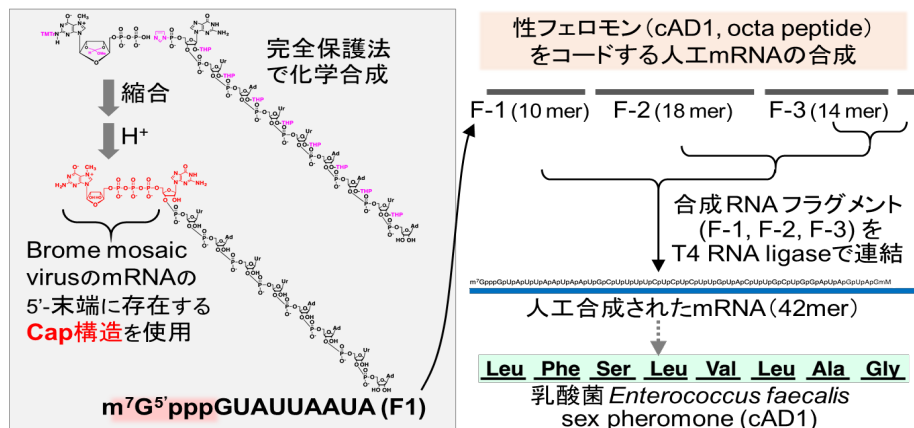
まず、この合成ユニット(図⑩ A)を用いて Bromo mosaic RNA ウイルスの 5'-末端部位の RNA 本体部分である9量体の合成が当時博士課程の学生であった本多伸吉さん⑪(協和発酵工業(株)→現(株)イムダイン代表取締役)らによって達成された。(注11) その後、この合成法は、博士課程の学生の上村孝さん⑫(帝人(株)→現(株)Veritas In Silico 代表取締役)らによって12量体の RNA を高収率で合成できるまでに改良された。(注12) その後博士課程の学生 谷村浩さん⑬(武田薬品工業(株)→山口大学



⑩ 畑研究室 (A (注11, 12), B (注13)) と関根研究室 (C (注14)) で開発された RNA 合成法に使われた RNA モノマー合成ユニット。



⑪ 畑研究室で RNA 合成研究に貢献した当時博士課程の学生だった4名の研究者。左から：本多伸吉、上村 孝、谷村 浩、岩瀬礼子。



⑫ 乳酸菌の性フェロモン mRNA の人工合成。3 本の合成 mRNA フラグメントを酵素的に連結し、42 量体の RNA がキャップ化された mRNA を合成した。

シニア URA 教授) らによってアミダイト合成ユニットを用いる RNA の化学合成法が開発されている (図⑩ B)。(注 13) RNA 合成では、DNA にはなかった 2' 水酸基が存在するので、この部分を保護する必要があり、保護基は縮合反応に立体障害を引き起こすため、縮合効率が DNA 合成と比べるとはるかに低い問題がある。そこで、その後私の研究室では、保護基としてこれまで報告されたものとしては最小のサイズをもつシアノエチル基を開発し (図⑩ C)、これを用いた RNA 合成法も開拓している。その結果、DNA 合成に近い縮合効率を達成することに成功している。(注 14)

キャップ化された RNA の合成は、山口和夫さんの合成研究から、より実用的な合成法が、博士課程の学生であった岩瀬礼子さん⑪ (京都工芸繊維大学→現帝京科学大学教授) らによって、この PhS 基をリン酸基の保護基として用いる RNA 合成法によって m⁷G⁵pppGUAUUAUA (F-1) ⑫が合成され、別途合成した 3 つの RNA フラグメントを RNA リガーゼで連結することによって、乳酸菌の性フェロモンをエンコードした 42 量体の RNA がキャップ化された mRNA の合成に成功した (図⑫)。(注 15)

この性フェロモンの短い 8 アミノ酸からなるペプチドが実際に細胞系で合成できるところまで研究は進まなかったが、原理的にはこのペプチドが少なくとも細胞系で合成できる構成にはなっている。現在、mRNA ワクチンの

構成も基本的には 3'-末端にポリ A 鎖が付加されているが、ペプチド合成に必要な最小限の基本構造は我々が合成したのものには組み込まれている。

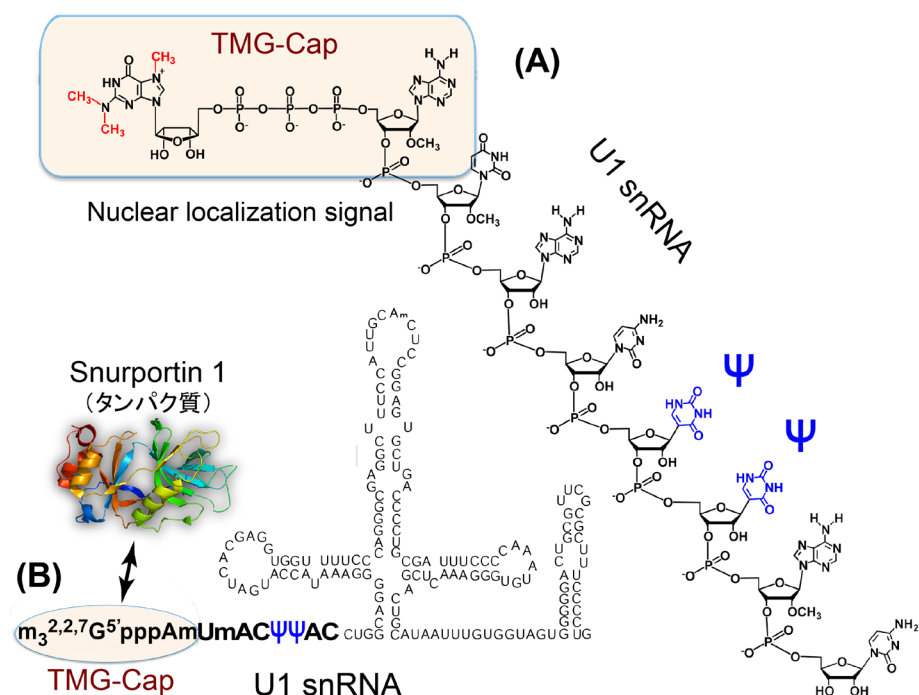
当時は、人工メッセンジャー RNA が将来新しいタイプの医薬品になるとは期待はしたものの、なかなか難しいだろうという感触であった。やはり、RNA 特有な不安定性が心配であったためである。いわゆるタンパク質の合成の前駆体としての医薬品としての可能性はかなりあるものと考えてはいたが、ま

さか、ワクチンとしての活用は当時考えもしていなかった。また、我々のこのような基礎研究は当時大手の医薬品企業からは全く注目されていなかった。

今日の mRNA のワクチンとしての実用化は、その後の少しずつ核酸化学が進歩して大量に核酸分子が合成できるようになったことが極めて大きいのではないかと考えている。現在は、RNA の化学合成はホスホロアミダイト法と呼ばれる合成法が最も普及し、50 量体程度の RNA はカスタム合成会社に発注すれば数日以内に入手ができる。キャップ構造の最小ユニットも市販化されている。

核酸合成の初期から研究開発に参画してきた私としては、何でも可能性のあることは、先が長い研究でも諦めずに挑戦し続けるのが肝要であろうとつくづく思う。

この性フェロモンをエンコードした mRNA の合成は、1992 年に行われたものであり、その後のキャップ構造をもつ RNA の化学合成の研究の歴史は、東工大でも引き続き行われてきた。意外とこのことについては、あまり知られ



⑬ 全合成された TMG-cap 構造をもつ U1 snRNA (U1 small nuclear RNA; 多くのタンパク質と一緒に RNA-タンパク質複合体を形成し、スプライシング [イントロンの除去、図①] に関与する)。

ていないようであるので、この機会にもう少し紹介したい。

私が長年 畑研で核酸合成に参画したのち、学内の総合理工学研究科の化学環境工学専攻の明畠高司先生の講座に留学生担当講師のポストが新たに創生され、幸い講師として学内に研究室を構えることができた (1988)。

超メチル化されたキャップ構造をもつ RNA の合成研究

一方、私が抜けた後も、畑研では mRNA の 5'-末端に存在するモノメチル化されたキャップ構造の合成研究が引き続き実施されていた。このキャップ構造は前述したように、5'-末端にモノメチル化されたグアノシンをもつものである。そのころ、利根川進先生が抗体の多様性が生まれる仕組み (遺伝子の組み換えと mRNA のスプライシング反応) の研究でノーベル賞を受賞されていたが、このスプライシング反応が起こるとき、高度にグアニン塩基がメチル化された「トリメチルグアノシン-キャップ」(TMG-cap) 構造をもつ小分子 RNA が関与していることが知られていた。このスプライシング反応とは、DNA から最初にできる mRNA の無駄な部分を取り除くためのもので (図 1 参照)、次に起こるタンパク質合成には必須の反応であった。

そこで、独立した私の研究室では、畑研究室の研究と重ならないように、少々遠慮して、この三つのメチル基が導入された TMG-cap 構造 (図 13 A) をもつ RNA の誘導体の合成に特化して合成研究を行うことにした。

この TMG-Cap 構造をもつ小分子 RNA は、いろいろ知られていたが、そのうち、U1 snRNA (U1 small nuclear RNA) という 254 の塩基配列をもつ TMG-cap 化された RNA の合成を目指して、TMG-cap 構造をもつ RNA の化学合成の基礎研究を行い、数多くの論文で発表してきたが、合成手法としては、その中でキャップ構造のトリリン酸結合を構築する新手法として塩化亜鉛存在下で行



14 核酸合成研究で活躍している学内研究者。左から：清尾康志，大窪章宏，正木慶昭。

う方法が、今日最も優れたキャップ構造の合成法として世界的にもよく活用されている。(注 16) これは、門倉慶知さん (サントリー(株)→アスビオファーマ(株)) が携わった研究成果である。

一方、我々が独自に開発した合成手法を用いて、U1 snRNA の 5'-末端にある TMG-cap をもつ $m_3^{2,2,7}G^{5'}pppAmUmA$ (図 13 A) を化学合成して、ハイデルブルクにある EMBO 研究所の R. Lührmann 教授との共同研究で、この TMG-cap を認識して結合できる Snurportin 1 というタンパク質 (図 13 B) を発見する機会にも恵まれた。(注 17) これは、TMG-cap を認識できるタンパク質の最初の発見でもあり、分子生物学の世界でも高く評価されている。

合成した数ミリグラム程度の TMG-cap をろ紙に染み込ませて Lührmann 先生に Airmail で送ったことを思い出す。(注 18) RNA の不安定性もさることながら、この TMG-cap も結構分解しやすいので、心配していたが、幸いなことに分解もほとんどなく、この発見物語に活用された。このとき感じたことは、このようなキャップ構造をもつ RNA 誘導体も、ことによると核酸医薬になるかもしれないと漠然と思ったものである。今日、これが実証されたことは、万感の思いがある。

退職の年には、当時私の研究室の助教であった大窪章宏さん¹⁴ (現生命理工学院准教授) が U1 snRNA の全合成を新たに開発したキャップ構造のトリリン酸化反応を用いて達成した。(注 19) 生理活性のある核酸分子としては、最大の分子量をもつもので、この RNA 誘導体の合

成は歴史的にみても価値が高いと評価されている。

興味深いことに、この U1 snRNA には 5'-末端付近に mRNA ワクチンで導入されていた 2 個のシュドウリジン (Ψ) が存在しているが、この修飾塩基をもつ TMG-cap 構造をもつ短鎖 RNA の化学合成法を先ず開発し、その後、別途残りの RNA 部位は分子生物学的手法で調製され、最後に RNA ライゲースという連結酵素を用いるという有機化学と分子生物学の合わせ技で達成されたものである。

3. 核酸創薬を目指して

開けつつある核酸医薬への道

核酸塩基の修飾塩基を RNA に取り込んだ合成研究は、私の研究室でも積極的に行ってきた。たとえば、U の代わりに 2-チオウリジン (s^2U) を導入した RNA はより正確に相補鎖 RNA や DNA と 2 重鎖核酸を形成できるなど、核酸医薬の品質向上に役立っている。(注 20) メッセンジャー RNA ワクチンに導入されたシュドウリジン (Ψ) は、大窪さんが合成した U1 snRNA の中にも含まれていて、この修飾塩基を含む化学合成でも、一足先の研究を展開してきた。また、RNA は安定性に欠ける性質があるが、これを解消する修飾 RNA である MCE-RNA [2-(N-methylcarbamoyl)ethyl-RNA] という修飾核酸も開発している。(注 21) この研究には、青山学院大学の光延旺洋先生 (向山研出身) から大学院学生として私の研究室に参画した実吉尚郎さ

ん（神奈川大学→滋賀医科大学→現宮崎大学医学部 准教授）と山田剛史さん（大阪大学産業科学研究所 助教）が大きな貢献をしている。

このような新規 RNA 分子の開発研究は、東工大情報理工学院教授の秋山泰先生と清尾さん¹⁴が プロジェクトリーダーとして参画している川崎市と東工大産学連携課の連携のもとに立ち上がった「IT 創薬技術と化学合成技術の融合による革新的な中分子創薬フローの事業化」という文部科学省「地域イノベーション・エコシステム形成プログラム」に引き継がれている。最近、MCE-RNA は、東工大の産学連携課の協力のもとに、日産化学にライセンスが成立して、今後核酸医薬の基本構造として大いに開発が期待されている。この実績に基づき、令和3年度手嶋精一記念研究賞（発明賞）を関根光雄・山田剛史・實吉尚郎・清尾康志の連名で共同受賞した。

大窪さん¹⁵は 科学技術振興機構（JST）の戦略的創造研究推進事業 CREST（研究総括：慶應義塾大学医学部塩見春彦教授）で、「ゲノムスケールの DNA 設計・合成による細胞制御技術の創出」という課題のもとで、長鎖 DNA の核酸合成法の開発で革新的合成法を編み出している。助教の正木慶昭さん¹⁶も 戦略的創造研究推進事業（さきがけ）で「副反応を起こさない核酸等価体による長鎖 DNA 合成」の課題のもと活躍している。

学外の東工大出身者の核酸医薬開発研究への貢献

以上は学内の核酸合成の研究の紹介であったが、学外でも東工大出身者の活躍が近頃目立っている。まず、畑研出身者で私の研究室の助教としても在籍していた和田猛さんの研究を紹介する。和田さんは私の研究室で塩基部無保護 DNA 合成法という従来困難であった新 DNA 合成法を開発したあと、東大工学部の西郷和彦先生（向山研出身）の研究室に准教授で移られた。そこでは、和田さんはホスホロチオエート DNA の画期的な立体特異的不斉合成法を開発していたが、その後、柏キャンパス

にある大学院新領域創成科学研究科で研究室を立ち上げたあと、ハーバード大学の Gregory Verdine 教授と共同で WaVe Life Science 社を立ち上げ、従来のホスホロチオエート DNA よりも 50 倍以上の活性をもつ将来有望な核酸医薬を開発した。現在は東京理科大学薬学部の教授として昨年始まった AMED の超大型プロジェクト「RNA 標的創薬技術開発」の研究開発代表者として我国の核酸医薬開発研究のリーダーとして大活躍している。

また、やはり畑研出身者である岐阜大学応用生物科学部の上野義仁さんと同じ AMED のプロジェクトの一つに参画し「酵素耐性をもつ修飾核酸の開発」に邁進している。この研究には、岐阜大で創設されたベンチャー企業の（株）GF・Mille の最高顧問となっていたキャップ構造発見者の古市泰宏先生が研究協力者として参加されている。

現在、私の研究室出身者も、例えば、庄田耕一郎（東京大学 大学院総合文化研究科 助教）、森口朋尚（群馬大学 大学院理工学部 准教授）、小堀哲生（京都工芸繊維大学 大学院工芸科学研究科 教授）、佐藤浩輔（北海道医療大学 薬学部 准教授）などの若手研究者が向山先生から受け継いできた「向山スピリット」を発揮して強力な合成力を生かした核酸医薬合成の分野で意欲的に研究を展開している。

このように、理工系の大学である東工大から巣立った学内外の研究者が核酸医薬開発の分野で顕著な活躍をしている。私がこれまで核酸合成を研究する際に常に心にとめていたことは、向山先生の“ひとの真似をするな”ということで、DNA や RNA の化学合成をするには、常に新しい合成戦略を練り、革新性を含めた合成研究を展開してきたことである。東工大は、追従する研究ではなく、新しい魅力ある核酸分子があれば、真っ先に新しい知恵を用いてその合成を達成するところに存在感があると思う。それが、なんとか、今まで受け継がれてきたと思われる。

今後も、東工大発の新しい核酸医薬

開発研究がますます展開されることを期待して筆をおく。

謝辞

本稿をまとめるにあたって、本学博物館の広瀬茂久特命教授には、私が急に思い立って書き上げた原稿を、読者に分かり易くレイアウトなども工夫していただき解説なども適切に補填していただき、心から感謝を申し上げます。

（注1）mRNA ワクチンのことについては、日本 RNA 学会に古市泰宏先生による「走馬灯の逆廻しエッセイ」第 28 話、29 話、及び 34 話にキャップ構造とメッセンジャー RNA ワクチンについて色々な逸話を含めて書かれている：◆<走馬灯の逆廻しエッセイ> 第 28 話「コロナウイルスへのメッセンジャー RNA ワクチン」<https://www.rnaj.org/newsletters/item/856-furuichi-28> ◆<走馬灯の逆廻しエッセイ> 第 29 話「これからのワクチンは分子生物学 mRNA ワクチン」<https://www.rnaj.org/component/k2/item/883-furuichi-29>。◆<走馬灯の逆廻しエッセイ> 第 34 話「コロナ mRNA ワクチン発見・開発の軌跡」<https://www.rnaj.org/component/k2/item/963-furuichi-34>。

また、一般向けの解説として、医師の峰 宗太郎氏が書かれた下記のウェブサイトから入手できる PDF ファイルが大変わかりやすく参考になる：<https://www.pref.niigata.lg.jp/uploaded/attachment/256915.pdf>。

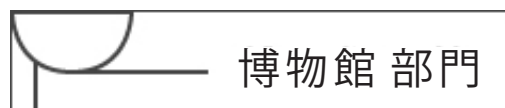
（注2）mRNA のキャップ構造の発見：国立遺伝学研究所からの報告は、Furuichi, Y. and Miura K. A blocked structure at the 5' terminus of mRNA from cytoplasmic polyhedrosis virus. *Nature* 253, 374-375, 1975. ◆米国ロッシュ研からの報告は Furuichi, Y., Shatkin, A. J., Stavnezer, E., Bishop, J. M. Blocked, methylated 5'-terminal sequence in avian sarcoma virus RNA. *Nature* 257, 618-620, 1975. ◆キャップ構造の発見物語は、Furuichi, Y. Discovery of m⁷G-cap in eukaryotic mRNAs. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 91, 394-409, 2015. に詳しく書かれている。

（注3）古市泰宏、日本 RNA 学会「走馬灯の逆廻しエッセイ」第 1 話「RNA 研究、発見エピソードの数々 | はじめに キャップ構造の発見」：<https://www.rnaj.org/newsletters/item/383-furuichi-1>。そのあと第 8 話まで関係する研究も紹介されている。

- (注4) 向山光昭, 松枝礼, 橋本光紀, トリフェニルホスフィンと 2, 2'-ジピリジルジスルフィド: ペプチドおよびヌクレオチドの新しい合成試薬, 有機合成化学協会誌 32, 56-63, 1974.
- (注5) Hata, T., Furusawa, K., Sekine, M. Synthesis of nucleoside di- and triphosphates via nucleoside 5'-phosphoric di-n-butylphosphinothioic anhydride intermediates. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 196-197, 1975.
- (注6) 関根光雄, 博士論文「有機リン化合物の新しい合成反応」, 東京工業大学, 1977. さらに詳しくは次の総説を参照:
Sekine, M. and Hata, T. Chemical synthesis of oligonucleotides by use of phenylthio group. *Current Organic Chemistry*, 3, 25-66, 1999.
- (注7) Hata, T., Nakagawa, I., Shimitohno, K., Miura, K. The synthesis of α , γ -dinucleoside triphosphates. The confronted nucleotide structure found at the 5'-terminus of eukaryote messenger ribonucleic acid. *Chem. Lett.* 5, 987-990, 1976.
- (注8) Nakagawa, I., Konya, S., Ohtani, S., Hata, T. A "capping" agent: P^1 -S-phenyl P^2 -7-methylguanosine-5' pyrophosphorothioate. *Synthesis*, 556-557, 1980.
- (注9) Yamaguchi, K., Nakagawa, I., Sekine, M., Hata, T., Shimotohno, K., Hiruta, M., Miura, K. Chemical synthesis of the 5'-terminal part bearing cap structure of messenger RNA of cytoplasmic polyhedrosis virus (CPV): $m^7G^5pppAmpG$ and $m^7G^5pppAmpGpU$. *Nucleic Acids Res.* 12, 2939-2954, 1984.
- (注10) Fukuoka, K., Suda, F., Suzuki, R., Ishikawa, M., Hata, T. One-pot synthesis of α , γ -dinucleotide 5'-triphosphates, G^5pppG and A^5pppA , using S, S' -bis(4-chlorophenyl)phosphorothioate. *Chem. Lett.* 23, 499-502, 1994.
- (注11) Honda, S., Urakami, K., Koura, K., Terada, K., Sato, Y., Kohno, K., Sekine, M., Hata, T. Synthesis of oligoribonucleotides by use of S, S' -diphenyl N -momomethoxytrityl ribonucleotide 3'-phosphorodithioates. *Tetrahedron* 40, 153-163, 1984.
- (注12) Kamimura, T., Tsuchiya, M., Urakami, K., Koura, K., Sekine, M., Shinozaki, K., Miura, K., Hata, T. Synthesis of a dodecaribonucleotide, GUAUCAUAAUG, by use of "fully" protected ribonucleotide building blocks. *J. Am. Chem. Soc.* 106, 4552-4557, 1984.
- (注13) Tanimura, H., Maeda, M., Fukazawa, T., Sekine, M., Hata, T. Chemical synthesis of the 24 RNA fragments corresponding to hop stunt viroid. *Nucleic Acids Res.* 17, 8135-8147, 1989.
- (注14) Saneyoshi, H., Seio, K., Sekine, M. A general method for the synthesis of 2'-O-cyanoethylated oligoribonucleotides having promising hybridization affinity for DNA and RNA and enhanced nuclease resistance. *J. Org. Chem.* 70, 10453-10460, 2005.
- (注15) Iwase, R., Maeda, M., Fujiwara, T., Sekine, M., Hata, T. Molecular design of a eukaryotic messenger RNA and its chemical synthesis. *Nucleic Acids Res.* 20, 1643-1648, 1992.
- (注16) Wada, T., Urashima, C., Sekine, M. Efficient synthesis of γ -methyl-capped guanosine 5'-triphosphate as a 5'-terminal unique structure of U6 RNA via a new triphosphate bond formation involving activation of methyl phosphorimidazolidate using $ZnCl_2$ as a catalyst in DMF under anhydrous conditions. *Tetrahedron Lett.* 38, 8359-8362, 1997.
- (注17) Huber, J., Cronshagen, U., Kadokura, M., Marshallsay, C., Wada, T., Sekine, M., Lührmann, R. Snurportin 1, an m^3G -cap-specific nuclear import receptor with a novel domain structure. *EMBO J.* 17, 4114-4126, 1998.
- (注18) Sekine, M., Kadokura, M., Satoh, T., Seio, K., Wada, T., Fischer, U., Sumpter, V., Lührmann, R. Chemical synthesis of 5'-terminal TMG-Capped triribonucleotide $m^3_{2,7}G^5pppAmpUmpA$ of U1 RNA. *J. Org. Chem.* 61, 4412-4422, 1996.
- (注19) Ohkubo, A., Kondo, Y., Suzuki, M., Kobayashi, H., Kanamori, T., Masaki, Y., Seio, K., Nagai, K., Sekine, M. Chemical synthesis of U1 snRNA derivatives. *Org. Lett.* 15, 4386-4389, 2013.
- (注20) Obika, S. and Sekine, M., Eds. *Synthesis of Therapeutic Oligonucleotides*. Springer (2018).
- (注21) Yamada, T., Okaniwa, N., Saneyoshi, H., Ohkubo, A., Seio, K., Nagata, T., Aoki, Y., Takeda, S., Sekine, M. Synthesis of 2'-O-[2-(N -methylcarbamoyl)ethyl]ribonucleosides using oxa-Michael reaction and chemical and biological properties of oligonucleotide derivatives incorporating these modified ribonucleosides. *J. Org. Chem.*, 76, 3042-3053, 2011.

2023年2月改訂

2022年5月

東京工業大学 博物館 資史料館部門
centshiryou@jim.titech.ac.jp

博物館 部門

東京工業大学 博物館



資史料館 部門

152-8550 東京都 目黒区 大岡山 2-12-1-E3-12 03-5734-3340 centshiryou@jim.titech.ac.jp
http://www.cent.titech.ac.jp/

佐藤 勲 (館長, 総括理事・副学長)
山崎鯛介 (教授, 副館長, 博物館部門長)
広瀬茂久 (特命教授, 資史料館部門長)
奥山信一 (教授, 兼任)
金子寛彦 (教授, 兼任)
野原佳代子 (教授, 兼任)
大竹尚登 (教授, 兼任)
服部佐智子 (研究員)

山中章江 (研究員)
浅井善朗 (事務職員)
佐々木裕子 (事務限定職員, 学芸員)
桐明紀子 (事務限定職員, 学芸員)
下角彰子 (事務支援員)
渡辺菊乃 (事務支援員, 資史料館)
鎌田祐輔 (事務支援員, 資史料館)
本間英子 (事務支援員, 資史料館)

和田康義 (事務支援員, 資史料館)
竹内 龍太郎 (事務支援員, 資史料館)
渋谷真理子 (事務支援員, 資史料館)
広報課 (博物館担当)
牧野崇行 (課長)
尾崎有美 (広報戦略グループ長)
資史料館 : 045-924-5501