

令和7年12月1日

フッ化アルキル鎖を修飾した人工ウイルスキャプシドにより メッセンジャーRNAの細胞内送達に成功！

【概要】

鳥取大学学術研究院工学系部門（工学部化学バイオ系学科、グリーン・サステナブル・ケミストリー研究センター）の松浦和則教授らの研究グループは、AGC株式会社との共同研究により、細胞膜透過性のフッ化アルキル鎖を修飾した人工ウイルスキャプシドを創製し、メッセンジャーRNA(mRNA)を細胞内送達することに成功しました（図1）。本研究で創製したフッ化アルキル鎖修飾人工ウイルスキャプシドによる mRNA の効率的な細胞内導入により、がん治療やウイルスに対するワクチン開発などへの展開が強く期待されます。本研究成果は 2023 年 5 月 2 日に AGC 株式会社と鳥取大学が特許出願し、2025 年 11 月 28 日にアメリカ化学会が発行する学術雑誌 *Bioconjugate Chemistry* に掲載されました。

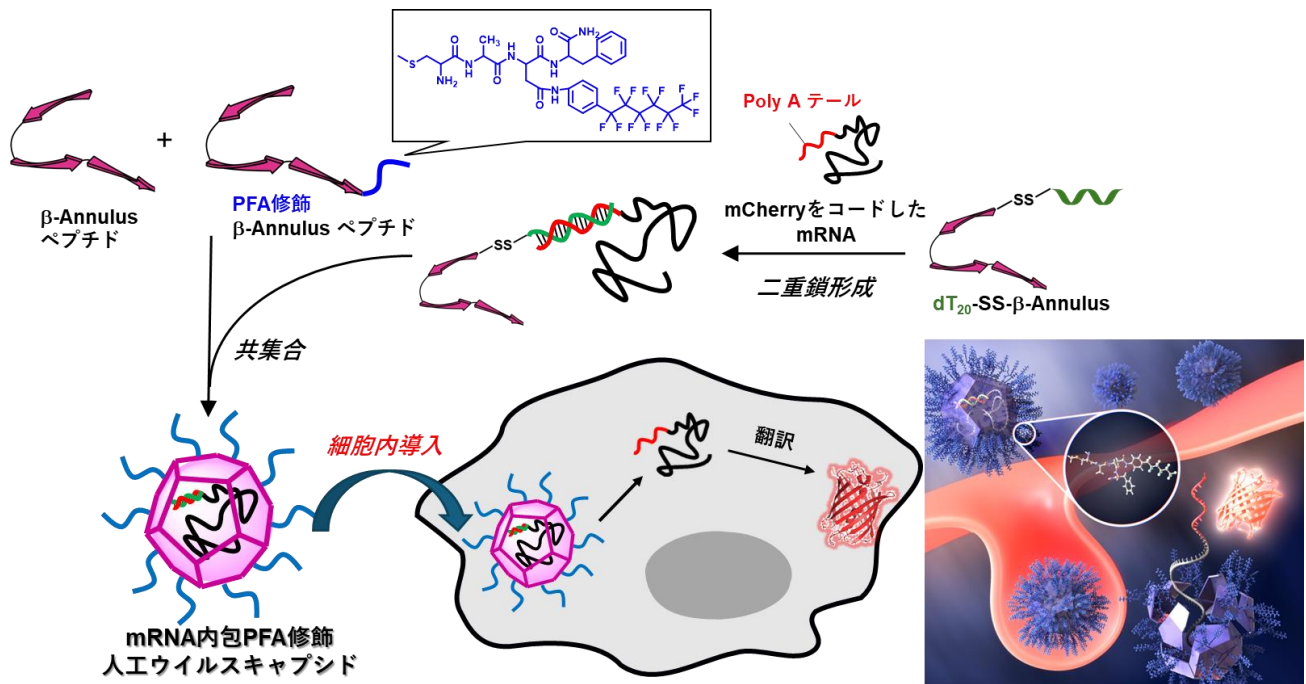


図 1. 細胞膜透過性のフッ化アルキル鎖を修飾した人工ウイルスキャプシドに mRNA を内包することで、がん細胞への効率的な mRNA 送達および細胞内発現に成功した。

【研究背景】

mRNA による遺伝子治療は、DNA の場合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を有し、タンパク質補充療法、がん免疫療法やワクチンに利用できるため、新しいタイプの核酸医薬として注目を集めています。これまでに mRNA を細胞内に送達するためのキャリアーとして、脂質ナノ粒子や高分子ミセルなどが開発されていますが、キャリアーへの mRNA の内包効率、安定性、細胞内導入・発現効率には改善の余地があり、新しい mRNA 送達のためのキャリアーが求められています。また、細胞内への薬物の導入効率を高めるために、細胞膜透過性ペプチド(CPP)を薬物キャリアーに修飾する研究が盛んに行われていますが、CPP の多くはポリカチオン性であるため、ポリアニオンである RNA と静電相互作用することで凝集体を形成するなどの問題点がありました。AGC 株式会社ではこれまでに、ポリカチオン性でないフッ化アルキル鎖(PFA)が、細胞膜との疎水性相互作用により高い細胞膜透過性を示すことを見出しました(*ChemBioChem*, 2023, 24, e202300374; *RSC Adv.*, 2025, 15, 8189)。一方、鳥取大学の松浦教授の研究グループでは、トマトブッシュスタンツウイルスの内部骨格形成ペプチド (β -Annulus ペプチド) からなる「人工ウイルスキャプシド」(ウイルスの殻構造)を構築することに成功しています。また、dT₂₀ という DNA を修飾した β -Annulus ペプチドと mRNA の poly A テールの二重らせん形性を利用して、人工ウイルスキャプシドに mRNA を内包することにも成功しています(*Appl. Sci.*, 2020, 10, 8004)。そこで本研究では、mRNA を細胞内に効率よく送達する新規キャリアーとして、PFA を表面修飾し、mRNA を内包した人工ウイルスキャプシドを創製し、肝がん由来の HepG2 細胞内への mRNA の効率的な送達ならびに蛍光タンパク質 mCherry の発現が起こるかどうかを検討しました (図 1)。

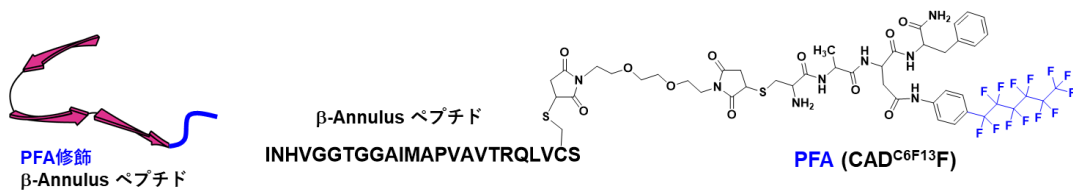


図 2. フッ化アルキル鎖(PFA)修飾β-Annulus ペプチドの構造

【研究内容】

まず、システインを有するペプチド同士を連結するビスマレイミドリンカーを用いて、人工ウイルスキャプシドの外部に配向する C 末端側に PFA を修飾した β -Annulus ペプチドを合成しました (図 2)。PFA 修飾 β -Annulus ペプチドと未修飾 β -Annulus ペプチドを 2:3 の比率で共集合させると、平均粒径 135 nm の人工ウイルスキャプシドを形成することが、動的光散乱測定と透過型電子顕微鏡観察から確認されました (図 3)。これを赤色蛍光色素で標識し、肝がん由来の HepG2 細胞への取り込みを共焦点レーザー走査顕微鏡(CLSM)で観察すると、細胞質内で赤い蛍光像が多く見られ、PFA 修飾人工ウイルスキャプシドが細胞内に効率的に取り込まれたことがわかりました (図 4)。細胞内の赤色蛍光色素の強度を定量することで、PFA 修飾人工ウイルスキャプシドは未修飾のキャプシドよりも約 12 倍多く HepG2 細胞に取り込まれることがわかりました。また、PFA 修飾人工ウイルスキャプシドの HepG2 細胞内取り込みは、各種エンドサイトーシス阻害剤により阻害されたことから、エンドサイトーシス経路により取り込まれることが示唆されました。

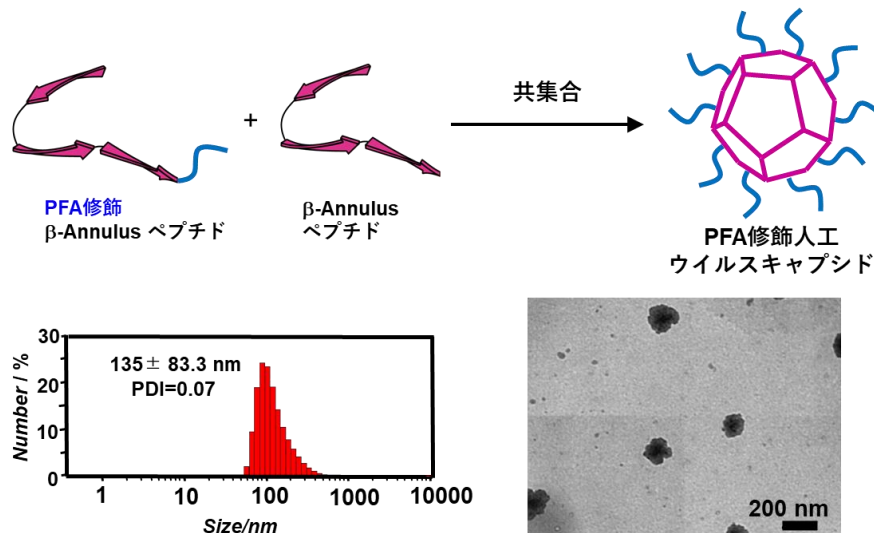


図 3. フッ化アルキル鎖(PFA)修飾人工ウイルスキャプシドの構築、粒径分布および透過型電子顕微鏡像

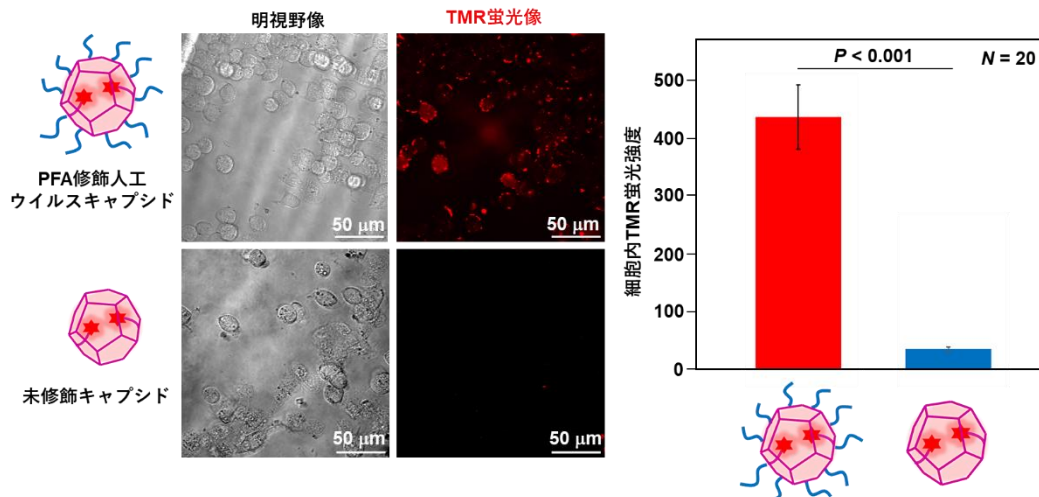


図 4. 蛍光ラベル PFA 修飾人工ウイルスキャプシドを導入した HepG2 細胞の蛍光像と細胞内蛍光強度の比較

次に、キャプシド内部に配向する N 末端側に dT₂₀ を結合させた dT₂₀-SS-β-Annulus コンジュゲートを既報(*Appl. Sci.*, 2020, 10, 8004)に従い合成し、赤色蛍光タンパク質 mCherry をコードした mRNA の末端に存在する Poly A テールとの二重らせん形性により複合化しました。これを PFA 修飾β-Annulus ペプチドおよび未修飾β-Annulus ペプチドと共集合させることで、mRNA を内包した PFA 修飾人工ウイルスキャプシドを構築しました (図 1)。これを HepG2 細胞に取り込ませた後、mRNA が細胞内で発現して生成する赤色蛍光タンパク質 mCherry の蛍光強度を CLSM 観察で評価しました。その結果、PFA 修飾人工ウイルスキャプシドを用いた場合は細胞内で mCherry の蛍光像が多く確認され、未修飾キャプシドの場合と比べて約 5 倍高い細胞内蛍光強度を示すことがわかりました (図 5)。興味深いことに、市販の RNA 導入試薬 Lipofectamine (カチオン性の脂質分子) を用いた場合よりも、PFA 修飾人工ウイルスキャプシドを用いた場合は約 2.5 倍高い mCherry 蛍光強度を示しました。これらの結果から、PFA 修飾人工ウイルスキャプシドにより mRNA が効率的に細胞内導入・発現されタンパク質が生成することが明らかとなりました。

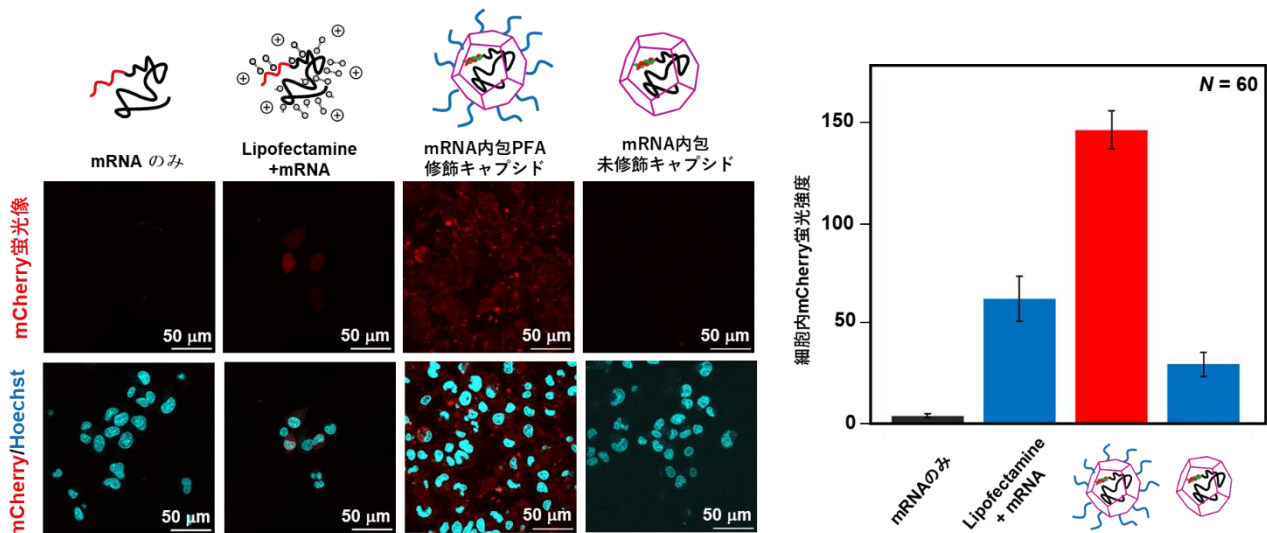


図 5. PFA 修飾人工ウイルスキャプシドにより HepG2 細胞内に送達された mRNA の発現による mCherry 蛍光像と細胞内蛍光強度の比較

【今後の展開】

本研究では、細胞膜透過性のフッ化アルキル鎖(PFA)を修飾した人工ウイルスキャプシドにより、mRNA ががん細胞内に効率的に送達・発現することを実証しました。現時点では標的細胞だけに選択的に mRNA を送達することはできていませんが、細胞標的性分子を人工ウイルスキャプシドに修飾することで、細胞標的性を付与することが可能となると考えられます。今後、本研究で開発された PFA 修飾人工ウイルスキャプシドに、がん治療用 mRNA を内包することでがん治療への応用や、ウイルス抗原の mRNA を内包することでワクチン開発などへの展開が強く期待されます。

【論文情報】

タイトル : Perfluoroalkyl Chain-Modified Artificial Viral Capsid for Enhanced Intracellular Delivery of mRNA

著者名 : Avijit Ghosh, Yuka Yamamoto, Mizuki Wada, Hiroshi Inaba, Kohsuke Aikawa, Yu Ota, Takashi Okazoe, Kazunori Matsuura

掲載誌 : Bioconjugate Chemistry

DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.5c00477

URL: <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.5c00477>

【特許情報】

発明の名称 : 人工ウイルスキャプシド

出願日 : 2023 年 5 月 2 日

国際公開番号 : WO2024/228371 A1

出願人 : AGC 株式会社

【お問い合わせ先】

・ 研究内容に関して

鳥取大学 学術研究院工学系部門（工学部化学バイオ系学科、グリーン・サステイナブル・ケミストリー研究センター）

教授 松浦和則

E-mail: ma2ra-k@tottori-u.ac.jp

Tel: 0857-31-5262

・ 取材申込・報道に関して

鳥取大学 広報・基金室

E-mail: toridai-kouhou@ml.adm.tottori-u.ac.jp

Tel: 0857-31-5550