



令和 5 年 6 月 13 日

報道機関 各位

熊本大学

様々なバイオ化合物を安全かつ最高水準で 細胞内に導入可能な変幻自在ポリマーを開発

(ポイント)

- 本研究グループは、これまでゲノム編集分子 (Cas9 RNP) の形や電荷分布を認知して変形し、強く相互作用する変幻自在ポリマーを開発してきました。
- 本研究では、変幻自在ポリマーが、Cas9 RNP のみならず、siRNA、アンチセンス核酸、タンパク質、メッセンジャー RNA 及び Cas12a (Cpf1) RNP など、多種多様なバイオ化合物に対して、安全かつ最高水準の細胞内導入効率を示すことを明らかにしました。
- 変幻自在ポリマーは、あらゆるバイオ化合物に対するユニバーサルキャリアとして可能性を有しており、平時のみならずパンデミック時の医薬品開発などに役立つことが期待されます。

(概要説明)

熊本大学大学院先導機構の東 大志准教授及び同大学大学院薬学教育部博士後期課程3年の田原春 徹大学院生らの研究グループは、これまで、ゲノム編集分子である Cas9 RNP という分子を高効率に細胞内に導入するためのキャリア「変幻自在ポリマー」を開発してきました。この変幻自在ポリマーは、Cas9 RNP の複雑な形や電荷分布を認知して変幻自在に変形し、強く相互作用する結果、細胞内に Cas9 RNP を高効率に導入することができます。この度、本研究グループは、変幻自在ポリマーがその変幻自在特性により、様々なバイオ化合物 (siRNA、アンチセンス核酸、タンパク質、メッセンジャー RNA 及び Cas12a (Cpf1) RNP) に対しても強く相互作用し、最高水準で細胞内に導入可能なことを明らかにしました。一般に、バイオ化合物を細胞内に導入するためには、化合物ごとにキャリアを設計する必要があり、非常に時間と労力を要します。今回の発見により、変幻自在ポリマーがあらゆるバイオ化合物に対して「これさえあれば大丈夫!」なユニバーサルキャリアとして有用であることが明らかとなったため、今後、平時のみならずパンデミックのような緊急時の医薬品開発にも役立つことが期待できます。

本研究成果は、国際科学雑誌「Materials Today Bio」において、令和5年6月8日に公開されました。本研究は、科学技術振興機構研究成果最適展開支援プログラム産学共同（育成型）(JPMJTR22U3)、文部科学省卓越研究事業、内藤記念科学振興財団、日本学術振興会特別研究員制度、若手研究者海外挑戦プログラム及び新製剤技術とエンジニアリング振興基金などの支援を受けて実施されたものです。

（説明）

近年、医薬品原薬として、タンパク質、抗体、核酸などのバイオ化合物が用いられるようになりました。さらに最近、ゲノム編集技術が進歩しており、ゲノム編集分子を医薬品に用いる研究が急速に進んでいます。しかし、核酸やゲノム編集分子が効果を発揮するためには細胞内に入る必要がある一方、これらは細胞内にほとんど入りません。また、タンパク質や抗体は細胞外で効果を示すものが多いですが、これらを細胞内に効率よく導入することができれば、創薬のターゲットが広がり、新たな機序の医薬品を創り出すことができると言われています。すなわち、昨今の医薬品開発において、バイオ化合物を高効率に細胞内に導入するための運び屋（キャリア）の開発が非常に重要であり、素晴らしいキャリアがあれば、バイオ化合物を用いた医薬品開発が加速すると考えられます。

昨年、本研究グループは、ゲノム編集分子である Cas9 RNP の形や細胞内の環境を認知して多段階に変形し、Cas9 RNP を高効率に細胞内に導入可能な「変幻自在ポリマー」を開発しました（図1）（2022年4月26日熊本大学プレスリリース「ゲノム編集分子を高効率に細胞内に導入可能な変幻自在ポリマーを開発」）。変幻自在ポリマーの基本骨格は、ポリロタキサンと呼ばれる数珠状の化合物です。ポリロタキサンとは、細長いひも状分子（ポリエチレングリコール）を複数のビーズ分子（ α -シクロデキストリン）の穴に通し、ひも状分子の両端を嵩高い分子で塞いだ化合物のことを言います（図2）。ポリロタキサン中のビーズ分子は、ひも状分子鎖に沿って動くことができるため、ビーズ分子に、Cas9 RNP と相互作用可能な官能基を導入すると、Cas9 RNP の形や電荷分布に合わせて変幻自在に変形し、オンデマンドに官能基を提示できる結果、強く相互作用することができます（図2）。変幻自在ポリマーと Cas9 RNP の複合体が細胞内に取り込まれると、エンドソーム（Cas9 RNP を分解してしまう小胞）を速やかに脱出し、その後、細胞質で Cas9 RNP を放出することができます。その結果、市販の最高水準のキャリアと比較しても導入効率に優れ、しかも安全性に優れることが分かりました。

変幻自在ポリマーは理論上、あらゆる大きさや形のバイオ化合物に対しても、変幻自在に相互作用し、高い細胞内導入能を示すことが期待できます。そこで本研究グループは、核酸医薬（siRNA、アンチセンス核酸）、タンパク質、メッセンジャー RNA 及び Cas9 RNP とは別種のゲノム編集分子（Cas12a (Cpf1) RNP) を用いて、変幻自在ポリマーが細胞内導入用キャリアとして有用であるか評価しました。その結果、驚くべきことに全てのバイオ化合物に対して、市販の導入用キャリアよりも安全で高い導入効率を示すことが明らかとなりま

した (図3)。

近年、次々に新しいバイオ化合物が誕生しているものの、バイオ化合物のキャリアを構築する際には、一般にバイオ化合物ごとに適したキャリアを設計する必要があります。これは非常に時間や労力を要するため、あらゆるバイオ化合物に対して高い細胞内導入効率を示すキャリアの開発が切望されていました。変幻自在ポリマーは上記の課題解決に一石を投じる可能性があり、平時のみならずパンデミックのような緊急時など、特に迅速に医薬品開発が必要とされる状況にも役立つと考えられます。

(論文情報)

論文名 : Versatile delivery platform for nucleic acids, negatively charged protein drugs, and genome-editing ribonucleoproteins using a multi-step transformable polyrotaxane

著者 : Toru Taharabaru, Takuya Kihara, Risako Onodera, Tetsuya Kogo, Yuting Wen, Jun Li, Keiichi Motoyama, Taishi Higashi

掲載誌 : Materials Today Bio

doi : 10.1016/j.mtbio.2023.100690

URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590006423001503>

(参考)

ゲノム編集分子を高効率に細胞内に導入可能な変幻自在ポリマーを開発
2022年4月26日プレスリリース

<https://www.kumamoto-u.ac.jp/daigakujouhou/kouhou/pressrelease/2022-file/release220426.pdf>

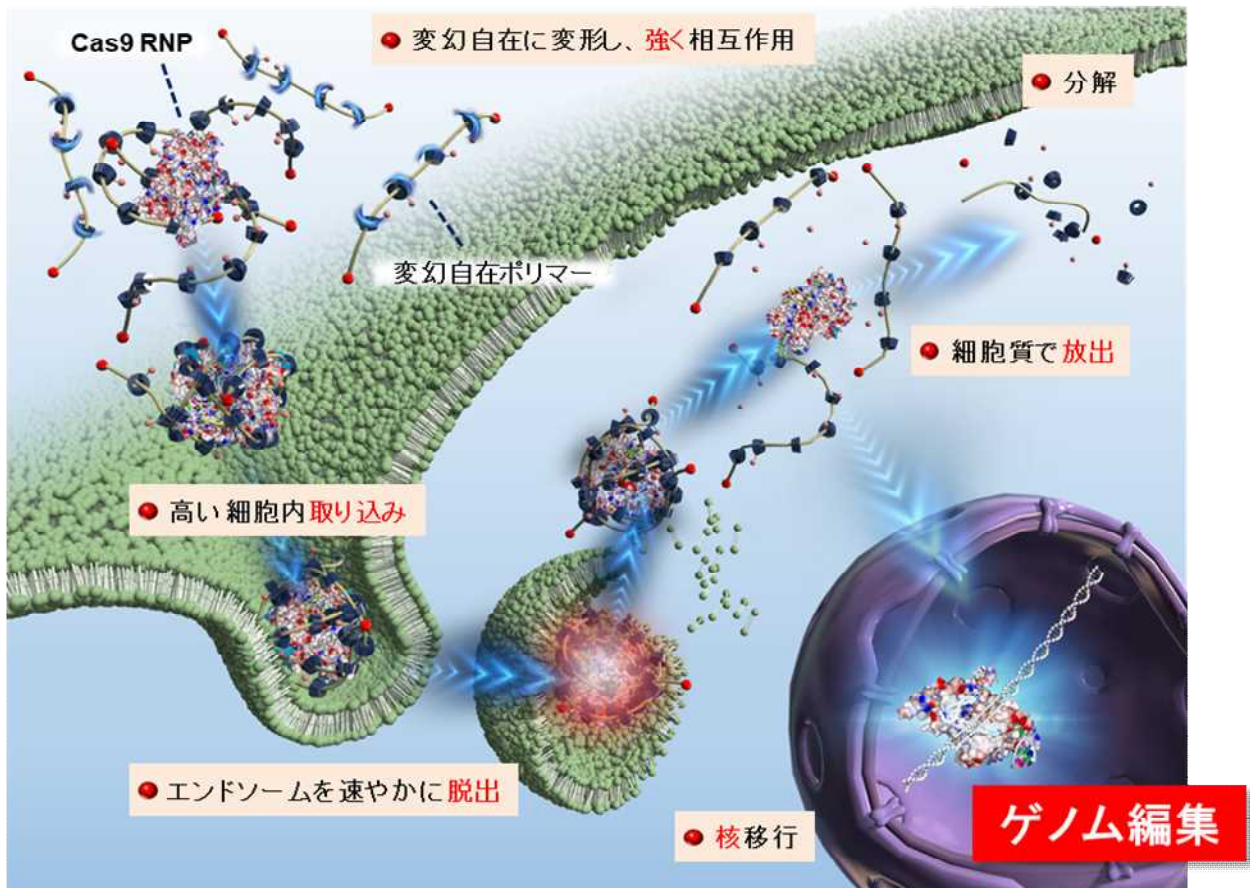


図 1. 変幻自在ポリマーによる Cas9 RNP 導入機構

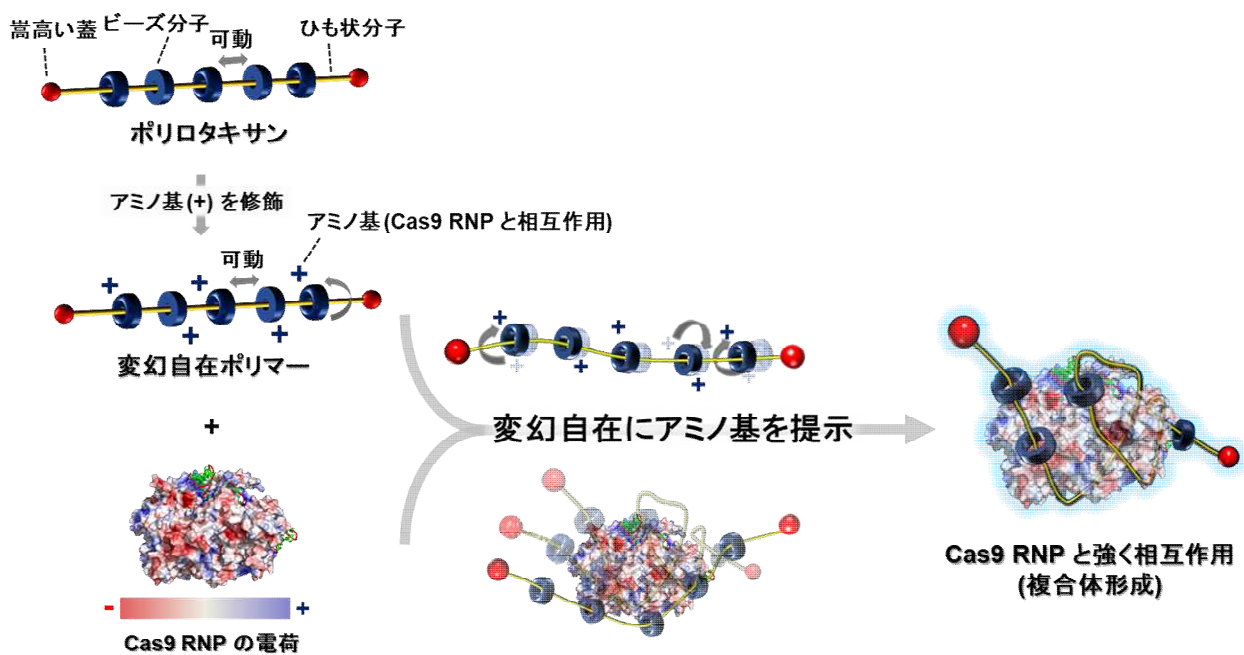
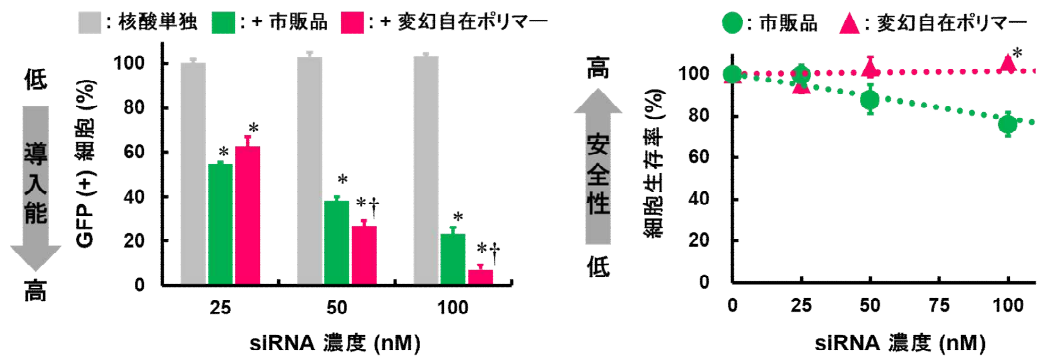
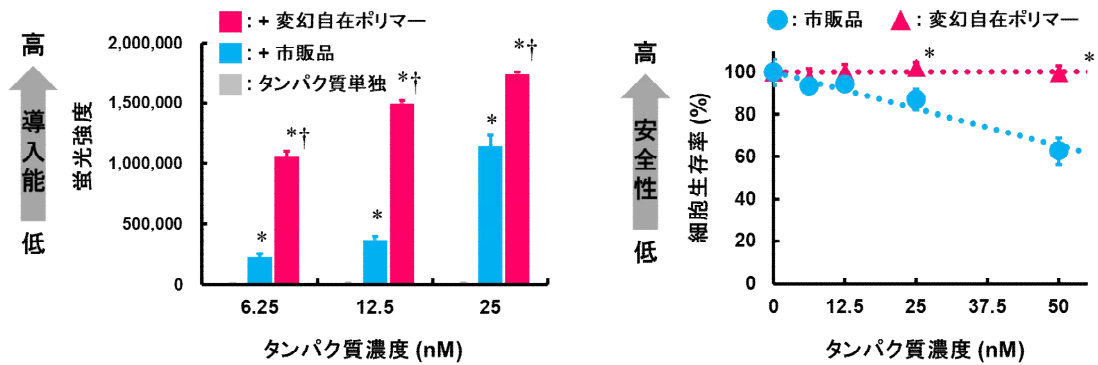


図 2. 変幻自在ポリマーと Cas9 RNP との相互作用様式

(A) 核酸医薬 (siRNA)



(B) タンパク質 (β -ガラクトシダーゼ)



(C) ゲノム編集分子 (Cas12a (Cpf1) RNP)

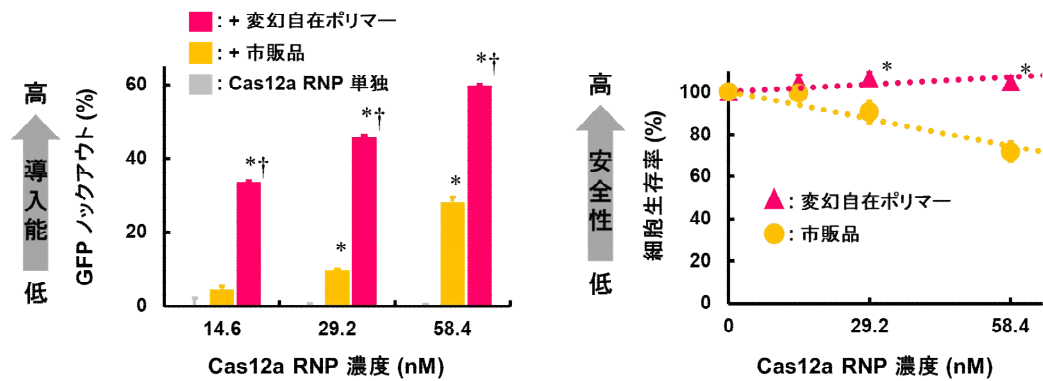


図 3. バイオ化合物に対する変幻自在ポリマーの細胞内導入能および細胞障害性

【お問い合わせ先】

熊本大学大学院先端機構

担当：准教授 東 大志

電話：096-371-4168

e-mail：higashit@kumamoto-u.ac.jp