

【目的】 DNA や mRNA などといった核酸を細胞に導入し、目的タンパク質を発現させる手法は 1990 年に登場し、遺伝子導入に核酸を用いるという概念が生まれた。当初、mRNA は細胞内において不安定であり、その発現が一過性のものであることから、DNA を用いた遺伝子導入法が主流となった。しかし DNA を用いた遺伝子導入には宿主ゲノムへの DNA 挿入による遺伝子変異および癌化の危険性が伴うという問題が浮上してきた。そこで近年、DNA を用いる方法に代わって細胞外で人工的に合成した mRNA を用いる方法が注目を集め、mRNA 医薬や mRNA ワクチンとして使用されている。他方、mRNA は副反応発現等の問題があるため、いかに細胞内での mRNA のタンパク質発現を効率化し、投与量を減らすことができるかが課題である。以上の背景を踏まえて、本研究では mRNA ワクチンの発現効率化を介して、より有効で安全なワクチン開発基盤の構築を目的とした。この目的を達成するために、まずは mRNA ワクチンに最適な非翻訳領域 (UTR) を選定した。その後、培養細胞株を用いた *in vitro* 実験により、選択した UTR を搭載した mRNA ワクチンの発現量を検証した。

【方法】 まず初めに、mRNA ワクチンが実際に導入されタンパク質を発現する骨格筋細胞において、翻訳効率の高い遺伝子を選定するため、公共データベースにアップロードされているデータを用いた。具体的には、ヒト骨格筋細胞と HeLa 細胞を用いた Ribosome profiling のデータを用い、各遺伝子の翻訳効率を算出した。選定した遺伝子の UTR を搭載した Luciferase mRNA を *in vitro* 合成した。これら合成した mRNA を HEK293A 細胞または C2CL12 細胞に導入し、翻訳効率を測定した。

【結果】 Ribosome profiling のデータベースに登録されているものの中から、ヒト骨格筋細胞および HeLa 細胞を用いたデータを使用し、すべての遺伝子の翻訳効率をそれぞれ算出した結果、骨格筋細胞で特異的に翻訳効率の高い遺伝子を同定した。得られた遺伝子の 5'UTR、3'UTR の両方を搭載する mRNA、片方ずつを搭載する mRNA を *in vitro* 合成し、HEK293A 細胞および C2C12 細胞に導入し、Luciferase の発光量を測定した結果、高い発現を示す UTR を複数種同定した。今後、*in vitro* 実験より選定した UTR 候補について、マウスを用いた *in vivo* イメージングによる二次スクリーニングを行う予定である。

実験の概略図

