

## 化学的キャップ化反応を鍵段階とする mRNA の完全化学合成

(名大院理<sup>1</sup>、iGCORE<sup>2</sup>) ○小川和哉<sup>1</sup>・稲垣雅仁<sup>1</sup>・Zhenmin Li<sup>1</sup>・阿部奈保子<sup>1</sup>・木村康明<sup>1</sup>・阿部洋<sup>1,2</sup>

### Complete chemical synthesis of mRNA with chemical capping reaction as the key step

(<sup>1</sup>Nagoya University, <sup>2</sup>iGCORE) ○Kazuya Ogawa,<sup>1</sup> Masahito Inagaki,<sup>1</sup> Zhenmin Li,<sup>1</sup> Naoko Abe,<sup>1</sup> Yasuaki Kimura,<sup>1</sup> Hiroshi Abe<sup>1,2</sup>

In recent years, mRNA vaccines against Covid-19 have been largely successful. However, current mRNA production methods require a complex biological process involving multiple steps with expensive enzymes. Furthermore, the high substrate specificity of the enzyme makes it difficult to introduce chemical modifications that would improve stability and translation efficiency. Therefore, we have developed a new method for the complete chemical synthesis of mRNA, which allows for short-process and site-specific chemical modification of mRNA.

The key to the complete chemical synthesis of mRNA is the introduction of the 5' cap structure. However, currently only enzymatic methods have been used to introduce the 5' cap structure, and no practical chemical method has been developed. Therefore, we devised a complete chemical synthesis method using the chemical capping method, as shown in Figure 1. First, 5'-phosphorylated RNA with chemical modifications is synthesized by an oligonucleotide synthesizer. Then, a cap derivative of the diphosphate imidazolide prepared as a capping reagent is reacted with the RNA in DMSO. At this time, we found that the addition of CaCl<sub>2</sub> and methylimidazole as activators greatly improved the capping efficiency. In this presentation, I will introduce the structure-activity relationship of site-specific chemically modified mRNA.

**Keywords :** mRNA cap, mRNA therapeutics, nucleic acid, vaccine, chemical modification

近年、Covid-19 に対する mRNA ワクチンが大きく成功を収めた。しかし、現在の mRNA 製造法では、複雑な生物学的プロセスを高価な酵素を用いて多段階経る必要がある。さらに、酵素の高い基質特異性のために、安定性向上や翻訳効率向上に繋がる化学修飾の導入が困難である。そこで我々は、mRNA の完全化学合成法の開発から短工程かつ位置特異的な化学修飾を可能とする新たな製造法の実現を目指した。

完全化学合成法のカギとなるのは、5'キャップ構造の導入である。しかし、現在 5'キャップ構造の導入には酵素的手法のみが用いられており、実用可能な化学的手法は開発されていなかった。そこで我々は、化学的キャップ化法を利用した完全化学合成法として Figure 1 に示す手法を考案した。まず、核酸自動合成機により化学修飾を導入した 5'末端がリン酸化された RNA を合成する。その後、キャップ化試薬として用意したジリン酸イミダゾリド型のキャップ誘導体を DMSO 中で反応させる。この時、活性化剤として CaCl<sub>2</sub> とメチルイミダゾールを添加することで大幅にキャップ化効率が向上することを見出した。

本発表では、位置特異的な化学修飾 mRNA の構造活性相関について発表する。

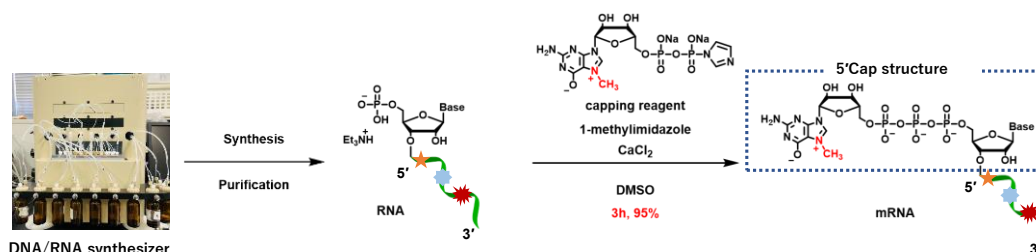


Figure 1. Chemical Synthesis of mRNA