



コロナウイルスの mRNA ワクチン

<https://l-hospitalier.github.io>

2021.5



Marylin Kozak, PhD



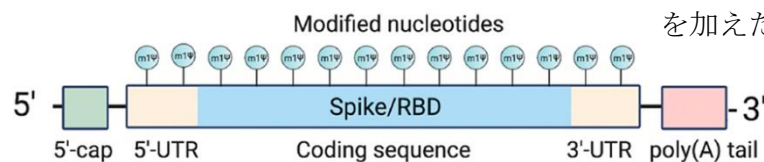
Katalin Kariko, PhD

感染対策の基礎知識

#287

ほとんどの真核細胞と真核細胞に感染するウイルスの mRNA は【**モノシストロン性 mRNA**】で mRNA の塩基配列と蛋白のアミノ酸配列コードが 1 対 1 に対応。これは mRNA の読み取り方(起点と終点、読み取り枠 open reading frame)が一意(unique)に定まる。一方原核生物の細菌やファージ(細菌に感染するウイルス)では【**ポリシストロン性 mRNA**】で、開始点と終止点を複数持つ。1 つの mRNA が複数のアミノ酸配列コード領域を持つ場合は一連の代謝系酵素系が多く、代謝系の活性に極端な律速段階を作らないことにつながる。読み取り領域がオーバーラップして 1 つの塩基配列から読み取り開始点と終止点(open reading frame)を変えることで機能的に複数のアミノ酸配列に対応している場合もある。原核生物では開始コドン(AUG)のさらに数塩基上流に**シャイン・ダルガノ**(SD) 7 塩基配列(AGGAGGU)を持ちここにリボゾームが結合する(#164 参照)。真核生物では SD 配列の代わりに AUG の開始コドンを含む**コザック**共通配列^{*1}(Kozak's consensus sequence: 5'-RNNAUGG-3')から翻訳を開始する(Kozak 共通配列はリボゾーム結合部位ではなく翻訳の開始点。原核生物ではスプライシングしないので SD 配列が結合点であると同時に開始点)。なお tRNA は古市の発見した 5'CAP 構造^{*2}と真核開始因子(eukaryotic initiation factor)に結合して AUG の開始コドンを検索し始める。【**mRNA ワクチン**】

ワクチンは病原体のエピトープを抽出、病原性をなくする処理をして生体に抗体を作らせる。一般には蛋白が使われるが、病原体の mRNA を膜につつんで失活しないようにして宿主体内に入れ、宿主のリボゾームを使って病原体蛋白を産生させる方法。ファイザー・ビオンテック(Pfizer・BioNtech)とモデルナは mRNA ワクチンでシノバック(中国)やスプートニク V(ロシア)は遺伝子組み換えで作成した蛋白にアジュバント



を加えた従来型。古市氏によるとコロナ用 mRNA ワクチンは左図の構造で 5'CAP に蛋白に翻訳されない 5'-UTR。Spike/RBD はウイルス表面のスパイク蛋白のアミノ酸配列で、その中にコロナの ACE2 レセプターと結合する領域(receptor binding domain)がある。mRNA は外から投与しても自然免疫系により PAMPS として排除されるので mRNA ワクチンは成立しないと考えられていた。ハンガリーの**カリコー・カタリン**(Katalin Kariko)は渡米後、ウリジンを 1-メチル・シュードウリジン ψ で置換した modified-mRNA は実験動物の自然免疫で排除されず、細胞内に入りウリジンとして読まれてアデニンと水素結合、有効に蛋白合成するのを発見(2008)^{*3}、コロナ mRNA ワクチンが成立(彼女は現在 BioNtech の副 CEO)。この mRNA を脂肪微粒子(LNP: lipid nano particle)で包む。宿主細胞内に入ると mRNA はスパイク蛋白を合成、細胞表面に配置されるので抗原提示細胞となる。これがリンパ節でナイーブ T 細胞を活性化する(#283 参照)。(十分理解できていません。ホットなテーマなので自分で良く確認のこと)

<ワクチンRNA作成レシピ>

10X転写反応液 (DNase・RNaseフリー中性緩衝液)、Mg、塩少々
ATP、GTP、CTP 各5 mM (終濃度)
UTP あるいはN1mUTP) 5 mM
キャッププライマー-m7GpppGpAmpG (TriLink社製CleanCap®) 4 mM
直鎖状にしたプラスミド DNA template 25~50 μ g
Murine RNase inhibitor 25 Units
Yeast inorganic pyrophosphatase 0.04 Unit
T7 RNA ポリメラーゼ 1,280 Units
これらに蒸留水を加えて、全量1 mlとし、数時間加熱してキャップ mRNAの酵素反応合成を進める。

^{*1}Marylin Kozak ^{*2}mRNA の 5'に結合する CAP 構造(7 メチルグアニル酸)はミトコンドリアや葉緑体の mRNA にはない。CAP はエキソヌクレアーゼによる RNA 分解を阻止する。1975 年に東大の古市と三浦が発見。^{*3} 阪大、審良静男、ペンシルバニア大 Wessmann との共同研究。