

酵素の変異導入無しに 非天然核酸を酵素重合する

甲南大学 大学院フロンティアサイエンス研究科
准教授 高橋 俊太郎

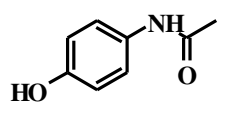
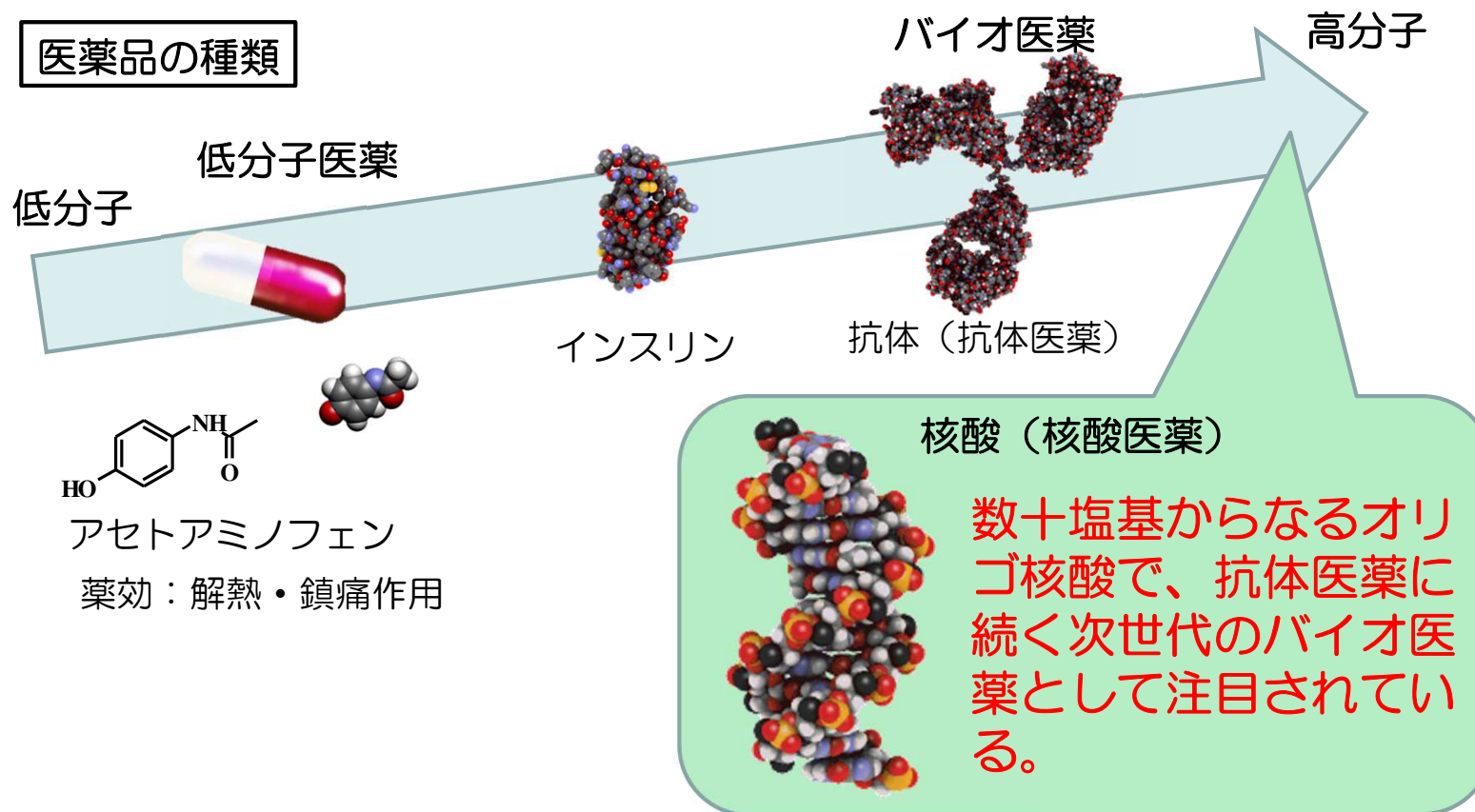
2026年2月26日

本発明のポイント

- RNA重合酵素の基質特異性を、ポリエチレングリコールを添加するだけで変換する手法を開発した。
- 従来法では難しかった様々な修飾核酸を有するキメラオリゴ核酸の作製に成功した。
- 本発明は核酸医薬などの開発に有用である。

背景

医薬品などに用いる核酸材料の開発が注目されている。



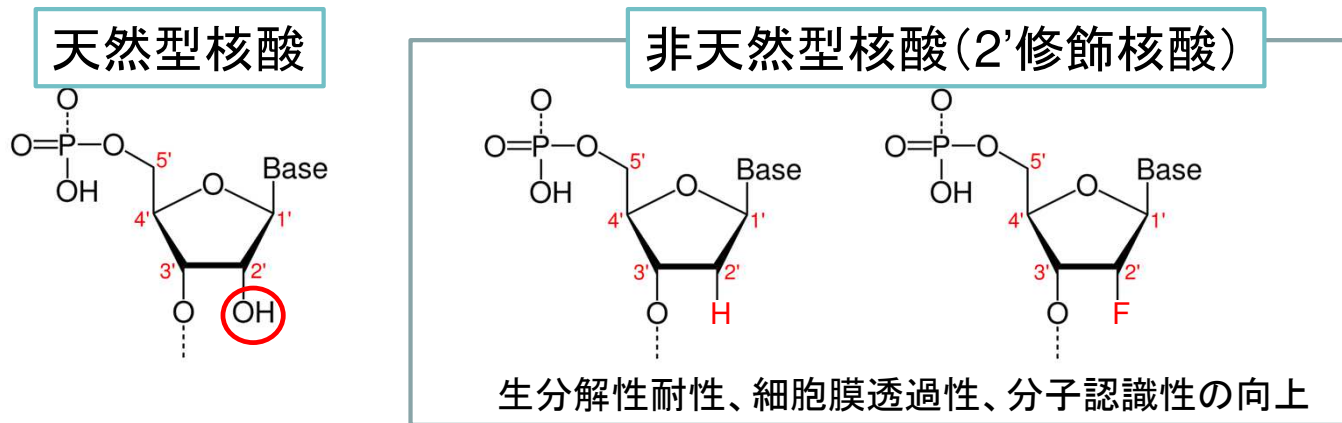
アセトアミノフェン
薬効：解熱・鎮痛作用

核酸 (核酸医薬)

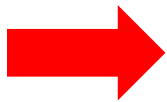
数十塩基からなるオリゴ核酸で、抗体医薬に続く次世代のバイオ医薬として注目されている。

核酸材料の作製における課題

化学修飾は、核酸の機能性を高める。



化学修飾が施された非天然型核酸を含むオリゴ核酸の迅速かつ多種の生産が必要。

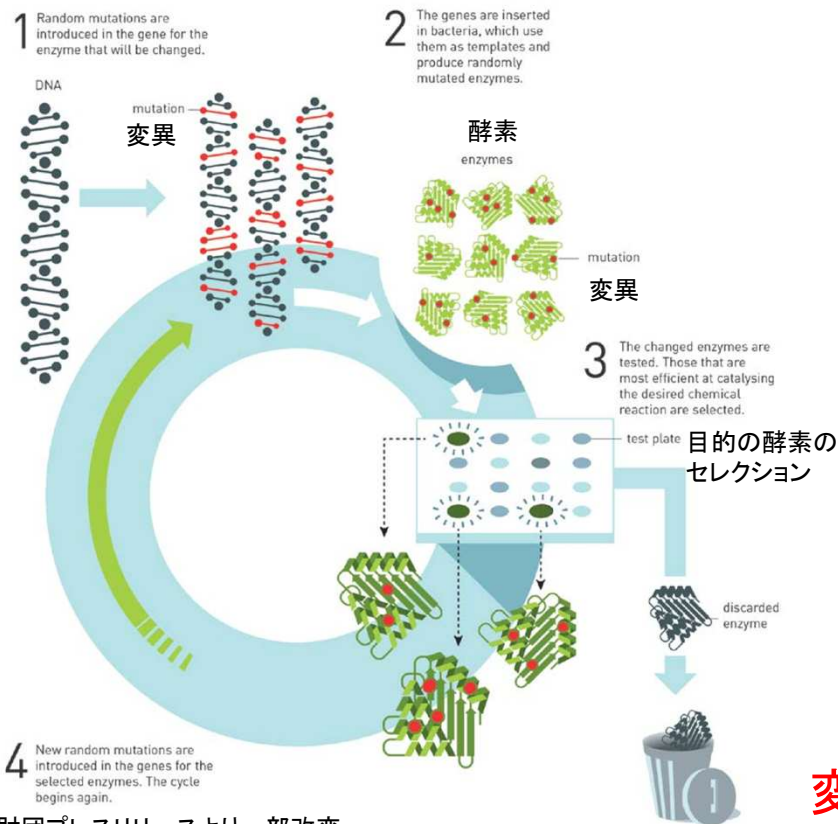


天然型酵素を改変して非天然型核酸を重合できる酵素の開発が不可欠。

従来技術とその問題点

開発に時間とコストがかかる。

理由：酵素の変異導入や活性種のセレクションが必要だから。



✓ 大腸菌などの生物の培養

✓ 目的の活性を持つ酵素を選抜する手法の開発

✓ 選択された酵素と遺伝情報の紐付け

望まれる技術

開発の時間とコストを大幅に減らすこと。

変異導入等の酵素の改変なしに酵素機能を変換する技術。

生命進化と分子クラウディング

RNA world RNA and protein world Modern DNA world
RNA genome RNA genome DNA genome

ゲノムがRNAからDNAに置き換わる際に、RNAポリメラーゼがDNA(2'位修飾核酸)を重合しはじめていた。

同時に原始細胞が形成され、溶液環境(分子クラウディング環境)が大きく変化した。



原始生命の酵素が反応を触媒する環境を再現できれば、RNAポリメラーゼの原始時代の酵素活性を呼び起こし、2'位修飾核酸を重合できる酵素を、変異導入なしに作製することができる。

世界で類を見ない酵素活性の覚醒技術

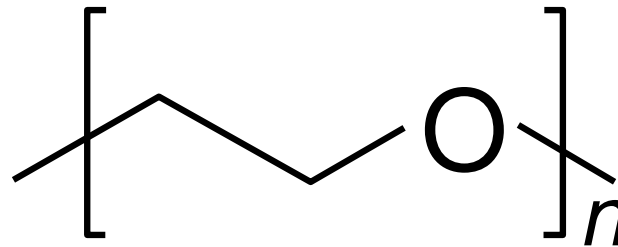
N. Glansdorff, Y. Xu, B. Labedan, *Biol. Direct.*, 2008, 3, 29.

Budin, I. & Szostak, J.W. *Annu. Rev. Biophys.* 39, 245-263 (2010).

Nucleus
Nucleoid

Molecular crowding

ポリエチレングリコール



- 溶液の物性を容易に変化できる。(誘電率や水の活量の低下)
- 酵素分子の構造をかえることができる。(排除体積効果)
- 大量かつ安価に入手することができる。
- 様々な重合度(分子量)が入手することができる。

本発明の核酸重合システムの特徴



図. (a) RNAポリメラーゼの一般的な反応 (b) 原始的な条件でのRNAポリメラーゼの反応。XとYは互いに任意の相補的な塩基

プロモーター配列下流の転写ではなく、原始的な複製反応を起こすようにテンプレート(鋳型となる核酸)を設計する。

PEG200存在下でのDNA重合への効果

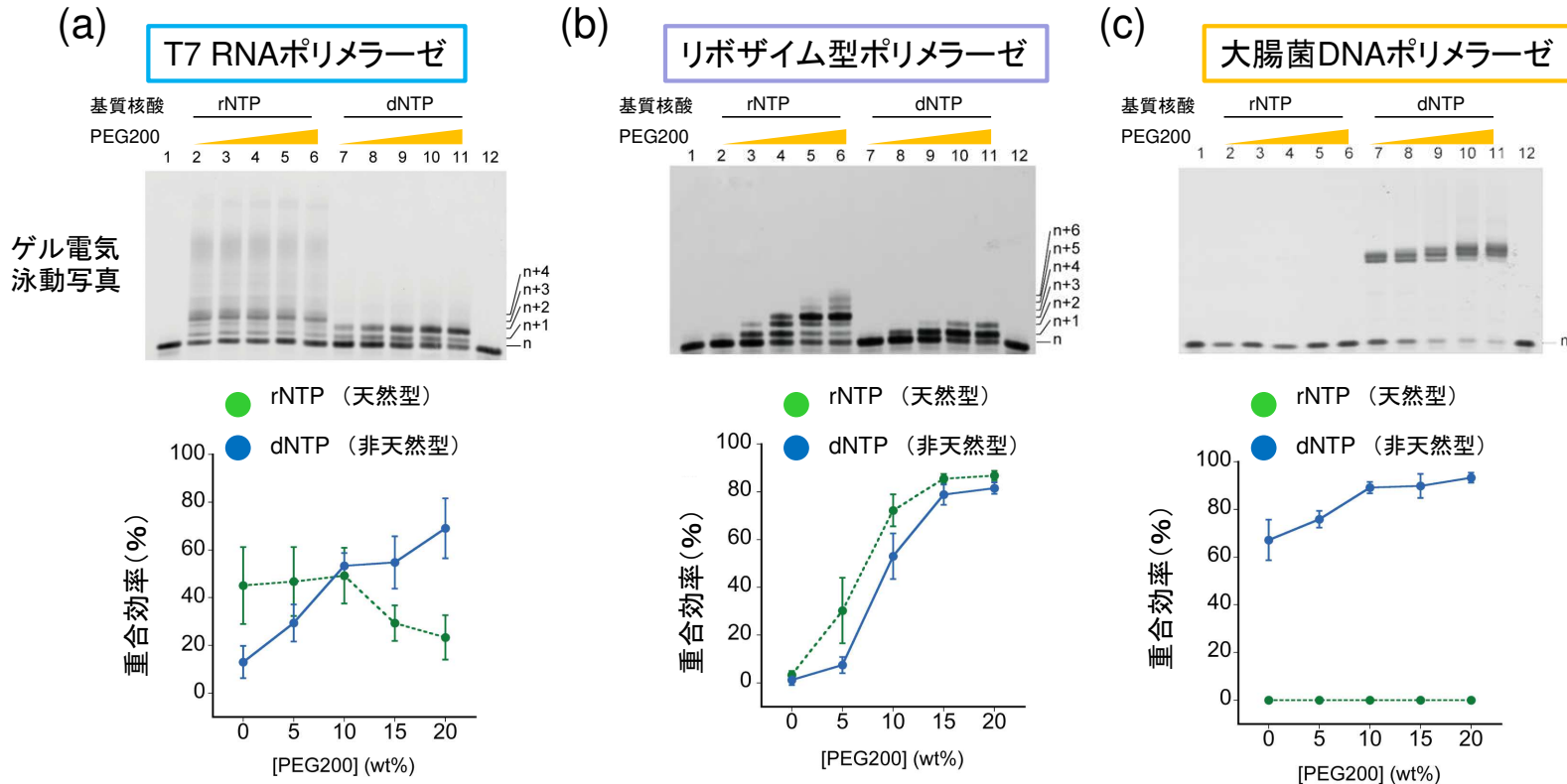
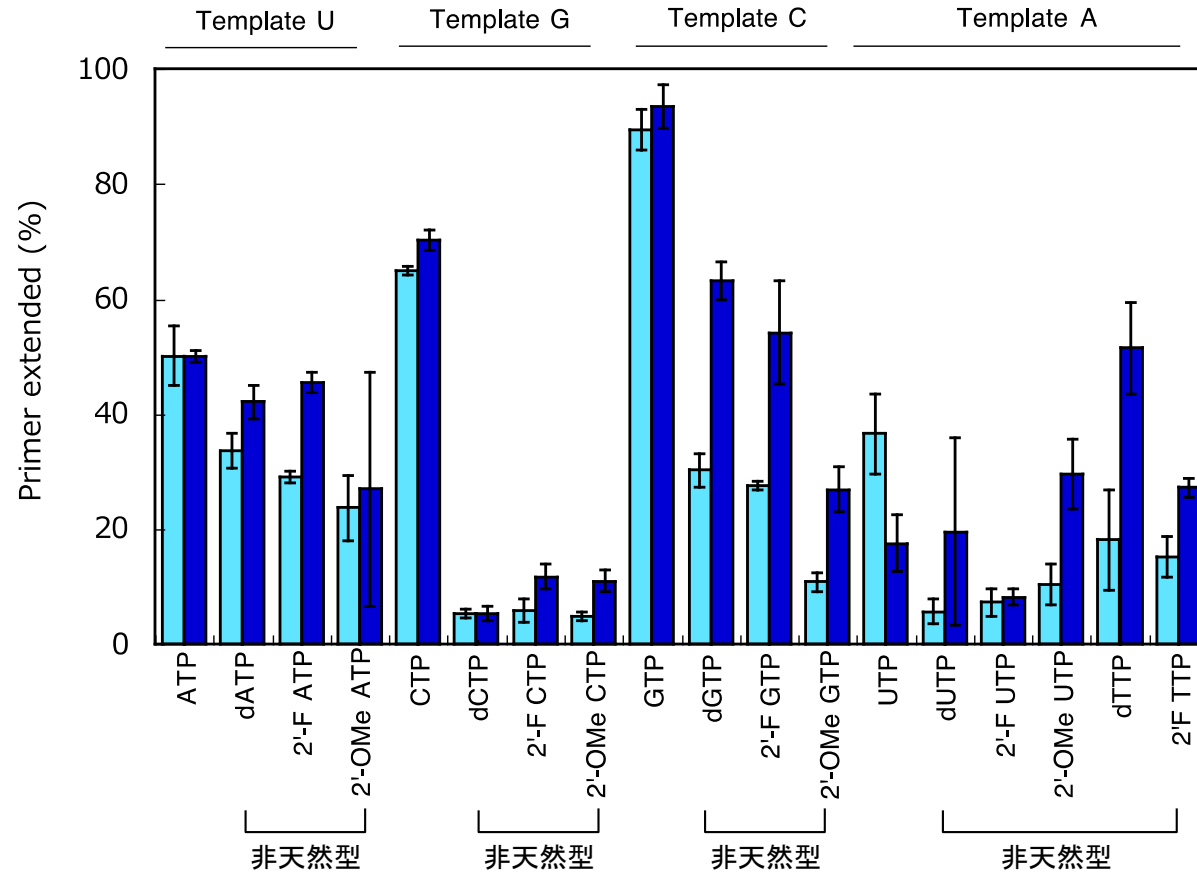
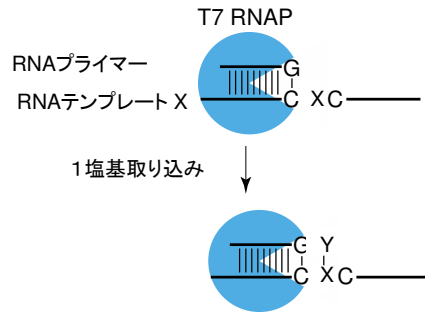


図 RNAおよびDNAの重合反応(a)タンパク質型T7RNAポリメラーゼ (b) リボザイム型ポリメラーゼ (c)タンパク質型大腸菌DNAポリメラーゼの反応。緑のデータポイントはrNTP(天然型)、青のデータポイントはdNTP(非天然型)が一塩基プライマー鎖に取り込まれた効率を示す。

T7 RNAポリメラーゼの活性は、PEG200濃度を20wt%まであげることでrNTPよりdNTPを重合するように変換された。

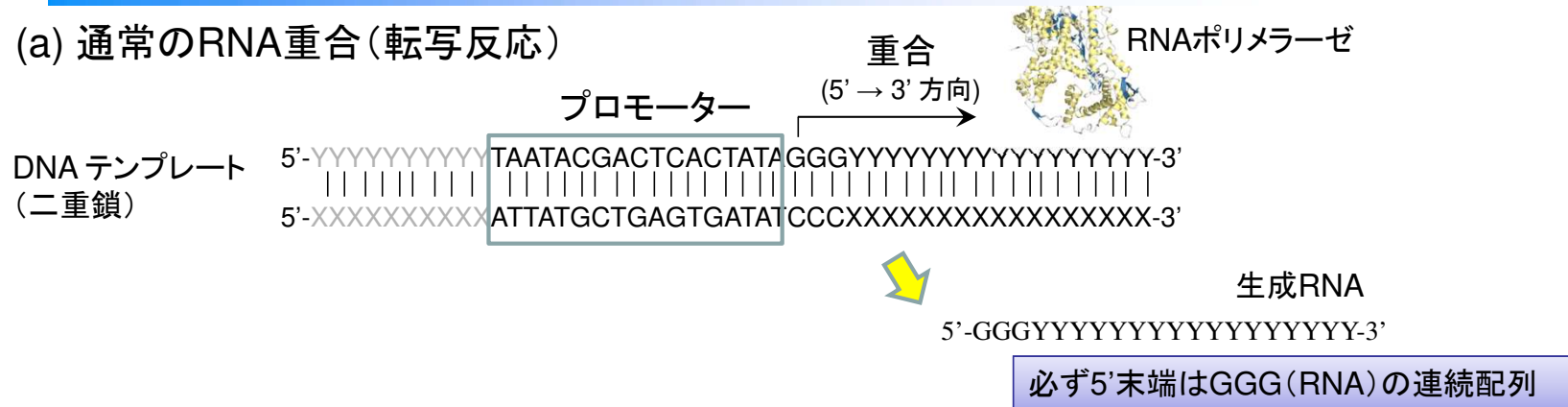
修飾基の異なる様々な基質の重合



化学修飾を有する様々な非天然核酸を重合することができた。

合成される核酸5'末端側の化学的自由度

(a) 通常のRNA重合(転写反応)



(b) 本手法のRNA重合(複製反応)

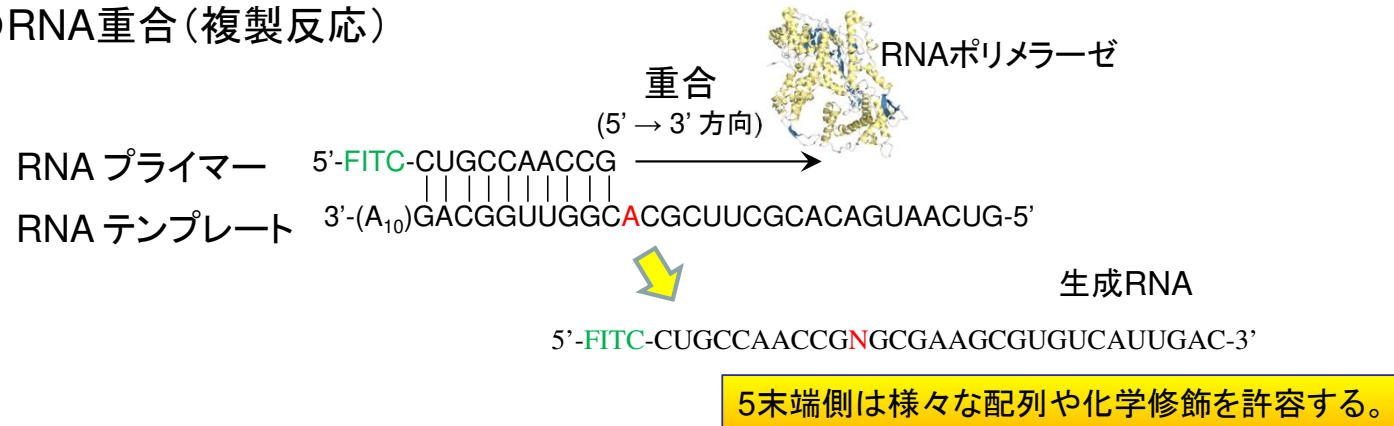


図1. (a) RNAポリメラーゼの一般的な反応 (b) 本手法の条件でのRNAポリメラーゼの反応。Nは適当な化学修飾核酸。

配列内に非天然型核酸を導入するだけでなくその5'末端側の配列や化学修飾の自由度が極めて高い。

キメラ核酸の作製

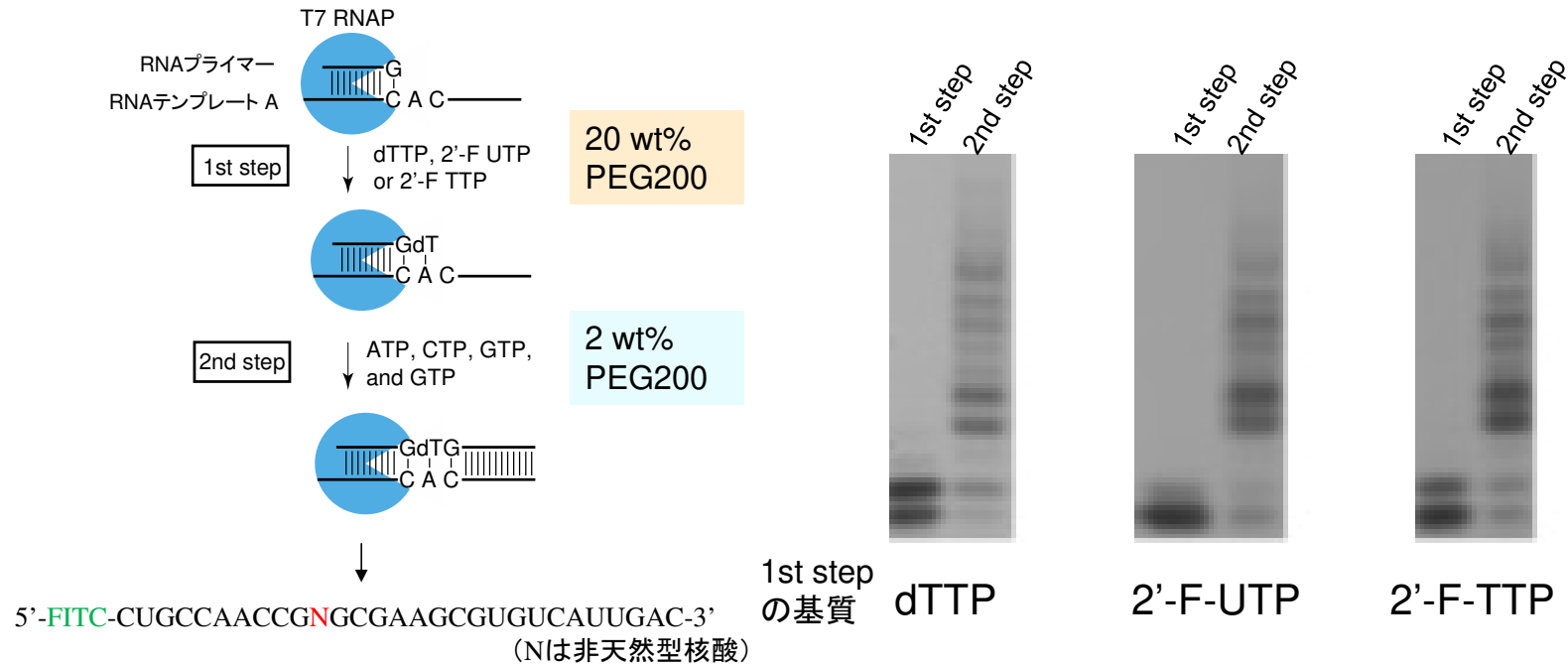


図. 酵素活性のスイッチングの例。最初に20wt%PEG200と各種修飾核酸(dTTP, 2'-F-UTP, 2'-F-TTP)を反応させ、原始的な複製反応を促す。続いて2nd stepにPEG濃度を薄め、rNTPを添加し通常のRNAポリメラーゼ反応を起こす。

段階的に活性を変換することで、非天然型核酸とRNAからなるキメラ型核酸を合成することに成功した。

新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来技術の問題点であった、非天然核酸を合成できる酵素（ポリメラーゼ）の開発に要する時間と労力を改良することに成功した。
- 従来は遺伝子レベルで変異を加えたポリメラーゼを得る必要があったが、添加物を加えるだけでポリメラーゼ活性を変調させることに成功した。
- 本技術の適用により、様々な非天然核酸を簡易に合成できるため、開発コストが大きく削減されることが期待される。

想定される用途

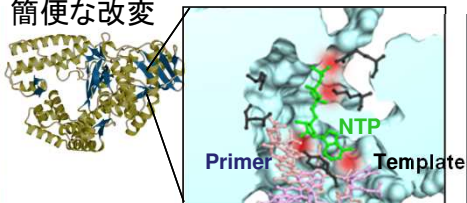
1. 核酸材料開発に有用な、様々な配列を持つ非天然核酸ライブラリーの作製
2. 変異導入不要の酵素の機能改変技術
3. 非天然型の化学修飾を活用した抗体医薬や、ペプチド抗菌剤の高機能化

高濃度ポリエチレングリコールによる酵素機能変換

非天然ライブラリーからの核酸医薬の開発



核酸関連酵素以外の酵素機能の簡便な改変



アミノ酸重合酵素への非天然基質の取り込み促進



実用化に向けた課題

- 現在、ポリエチレングリコール等の添加物によって酵素活性の変調が可能なところまで開発済み。しかし、反応性の低さ（速度・特異性）が未解決である。
- 実用化に向けて、反応性の低さ（速度・特異性）をこれまでの変異酵素レベルまで向上できるように技術を確立する必要もあり。
- 今後、核酸以外の酵素についても実験データを取得し、汎用的に活用していく場合の条件設定を行っていく。

企業への貢献、PRポイント

- 本技術はポリメラーゼ酵素活性を添加物で容易に変調させることができるため、様々な核酸ライブラリーを迅速に合成したい企業に貢献できると考えている。
- 本技術はあらゆる酵素反応に対しての効果が期待でき、様々な非天然型の酵素反応を行える可能性がある。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 核酸合成法
- 特許番号 : 特許第7016511号
- 出願人 : 学校法人甲南学園
- 発明者 : 杉本直己、高橋俊太郎、大倉裕道

お問い合わせ先

**甲南大学
フロンティア研究推進機構**

TEL 078-441-4547

FAX 078-435-2324

e-mail sangaku@adm.konan-u.ac.jp