

【目的】物質輸送はあらゆる生物分野に関連する基本的な事象である。「何を運ぶか」「どこに運ぶか」によって関連する分野が創薬、植物学、分子生物学、ゲノム編集など多岐にわたるため、新たな輸送法の開発は他分野への大きな進展を期待できる。特に核酸やタンパク質は近年創薬、医学でよく用いられる生体高分子であるが、細胞内において構造安定性に乏しく、プロテアーゼやヌクレアーゼによって分解を受けることでその機能を失ってしまう。それに加え、低分子と比較して製造やライセンスコストが高いため、核酸やタンパク質の機能を最大限に発揮させるには、標的組織の細胞内へと効率的に送り込むことが求められる。ゲノム編集は、医学をはじめとした生命科学のあらゆる分野へ革命をもたらした技術である。ゲノム編集は創薬や医療の分野でも盛んに研究されており、ゲノム編集によって作製された疾患モデル細胞が疾患の発現機構の解明や化合物スクリーニングによる薬剤開発に用いられている。さらに、病気の原因となる遺伝子のノックアウトや欠損遺伝子のノックインのような遺伝子治療を行うことで、難病を根本的に解決できる可能性がある。2020年にCRISPRがノーベル化学賞の受賞対象にもなったように、基礎研究と応用研究の両面で開発が活発化している。ゲノム編集技術の最大の障壁の一つは、ゲノム編集ツールの細胞への導入にあるため、効率的に導入する方法が依然として求められている。

【方法】本研究ではゲノム編集ツールとなりうる核酸やタンパク質、さらに抗体の細胞内輸送を輸送可能な担体分子の開発を行った。さらに見出した分子群のライブラリー構築をおこない、その詳細な化学構造と輸送効率の相関関係を調査した。

【結果】輸送する核酸の種類、輸送箇所にあわせたナノカーボン分子を合成すべく、ナノカーボン分子の精密合成、核酸輸送に関する構造機能相関を試みた。これまでに、アミノ基を導入したペリレン分子KTU059、KTU207およびお椀型分子であるコラニュレンKTU205が哺乳類細胞において核酸の輸送能を有していることをウエスタンブロット解析から見出していた。そのためKTU059、KTU207、KTU205を出発点として、核酸輸送の想定作用機序に基づいた構造機能相関研究を行った。その結果、アミノ基の種類や化合物の脂溶性がDNA輸送において非常に重要な要因であることが示唆された。またタンパク質の等電点を参考に、アニオン性の蛍光タンパク質R-phycoerythrin (R-PE)を標的にカチオン性ペリレン誘導体を用いて輸送実験を行った。バイオイメージングの結果、細胞内にR-PEを確認できた。また、同様にアニオン性の加水分解酵素 β -galactosidase (β -Gal)も細胞内に輸送可能であることを見出し、加えてその生物活性を有していることが示された。さらにアニオン性ペリレン誘導体SMZ034およびSMZ040を新たに合成し、カチオン性タンパク質として抗体を標的とした輸送能の調査を行った。するとバイオイメージングの結果、細胞内への輸送が見出された。またSMZ034をもちいたカチオン性の毒性タンパク質Trypsinの輸送実験をしたところ、輸送剤なしと比べて有意な差で細胞毒性が示された。

ナノカーボン分子をもちいた核酸やタンパク質の細胞内輸送

