

研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム

産学共同(育成型) 完了報告書(公表用)

1. 課題の名称等

研究開発課題名	: 膜透過促進技術を利用した生細胞への革新的タンパク質直接導入法の開発
プロジェクトリーダー 研究責任者	: 高島 英造(愛媛大学)

2. 研究開発の目的

遺伝子を細胞内へ導入する系は既に確立されているが、「タンパク質を細胞内へ導入する系」は発展途上である。そこでマラリア原虫タンパク質由来の細胞膜透過タグと、膜曲率理論から導いた膜透過促進剤を組合せることで、今まで不可能だった大きなタンパク質を真核細胞へ高効率に直接導入できる系を確立する。修飾タンパク質による細胞内でのタンパク質構造機能解析や、抗体による生細胞内での分子局在・機能阻害解析や、導入量を変化させることでタンパク質の量依存性反応の解析など、バイオ分野の多岐にわたり利用可能な膜透過実験キットの基礎を築く。

3. 研究開発の概要

3-1. 研究開発の実施概要

マラリア原虫タンパク質由来の膜透過タグ候補として、43種類のタンパク質をコムギ無細胞系で発現に成功した。またそれら膜透過タグに GST や GFP を融合し、Hela 細胞に対して直接膜透過活性を測定した。その結果、新規に 2 種類の膜透過タグを見出すことに成功した。また FITC-R8(高い膜透過性)、FITC-R4(弱い膜透過活性)ペプチドをマーカーに、リポソームおよびヒツジ赤血球に対する膜透過促進活性を測定することで、新規な膜透過促進剤を 22 種類同定することができた。さらに膜透過促進剤の共存下、膜透過タグ融合 GFP あるいは GST は、生理条件で Hela 細胞に直接膜透過することを認め、特に GFP 濃度は細胞内外で同程度にまで高める事ができた。

3-2. 今後の展開

本研究で分子量 25~30kDa のタンパク質を高効率に直接膜透過させる技術が開発されたインパクトは大きい。すでに企業と様々な応用を検討する共同研究を開始し、なるべく早い事業化を目指している。また透過させるタンパク質によってタグと促進剤の組合せを最適化する必要性がある事から、本研

究で確立したリソースを有効活用することにより、用途に応じてオンデマンドに直接膜透過系を確立し提供する事業にも横展開が可能と考えている。