

## 研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名：1次元分子認識システムを応用した多糖系遺伝子マニピュレーターの創製

2. 研究代表者：新海 征治（九州大学大学院工学研究院 教授）

3. 研究概要：

本研究は、JST国際共同研究‘分子転写プロジェクト’において“試験対象として取り上げたすべての $\beta$ -1,3-グルカンがDNAやRNAなどの核酸と3重螺旋を形成する”という発見に基づき、遺伝子を人工的にマニピュレート（精製、分離、運搬、配列認識、転写・翻訳のon-off）する、全く新しい技術体系の確立に向けた開発研究である。

具体的には高分子化学、物理化学、有機化学のポテンシャルを駆使しての糖と核酸の組み合わせによる新規材料の開発と、分子生物学及び細胞工学に基づいて遺伝子デリバリー、アンチセンスデリバリー、CpGモチーフのデリバリー、RNAiの発現ベクターのデリバリー、mRNAの分離と微量検出等の遺伝子マニピュレーション技術を開発することにある。また、並行して進めている基礎研究の知見より新しい材料合成への指針も生み出している。

研究は主として九大と北九大、そして大阪市大が協力して実施した。以下結果の概要を示す。

(1) **遺伝子デリバリー**：遺伝子治療の研究の進展にともない、外来遺伝子DNAを効率よく細胞内に導入するキャリアを開発することが重要である。現在、ウィルスキャリアを用いる方法や高分子、リポソームなどを用いる非ウィルスキャリアの研究が世界中で活発に進められている。しかし、前者は安全性の面で、後者は導入効率が低いという問題点がある。本研究では、天然多糖シゾフィラン（SPG）を用い、コードしたい遺伝子の両末端に poly(dA) を付加し、これを SPG と複合化させたものを用いてガン細胞へトランスフェクションを行ったところ、核内で遺伝子発現が起こることを見出した（特許出願）。さらに、細胞膜透過性に優れた市販非ウィルス系ベクターと組み合わせることにより、今までにない高い遺伝子発現率を達成した（特許出願）。A社から遺伝子導入剤としての試薬販売を計画中である。

ここで、開発している多糖系の非ウィルスベクターの最大の特徴は、従来のカチオン性の合成高分子と比較して圧倒的に安全性が高いことにある。

(2) **アンチセンスデリバリー**：アンチセンス法は、標的遺伝子より転写された mRNA に対して相補的に結合するアンチセンス DNA (AS-ODN) を投与して、遺伝情報をノックアウトする遺伝子治療法である。ただし、血液中に存在する酵素等による分解などで細胞内取り込み量が低い等の問題点があり、本研究は SPG の細胞認識部位を修飾し、AS-ODN/SPG 複合体を形成して細胞内取り込み作用を促進させた。その結果、安全で効率の高い、新規なアン

チセンスデリバリーシステムを確立した（特許出願）。今後動物実験で確認するとともに、具体的な医療向け用途を探索中である。

（３） **CpG モチーフのデリバリー**：微生物やウイルスに特異的な DNA の配列である、メチル化されていない CpG DNA を免疫系の細胞である抗原提示細胞に取り込ませて、細胞性免疫を活性化する方法が注目を浴びている。ところが、CpG DNA は生体で分解されやすいので、デリバリーシステムの開発が不可欠となる。本研究では、コレステロールを修飾した SPG を用いるなど、CpG モチーフの安全で効率の高いデリバリーシステムを確立した（特許出願）。現在 CpG 研究の中心である大阪大学微生物学研究所のチームと共同で、アレルギーに対するアジュバント化学療法等の開発を目指している。

（４） mRNA の分離：シゾフィランを修飾したアフィニティーカラムを用い、酵母抽出物からメッセンジャーRNA を高精度で抽出することに成功した（特許出願）。既存の oligo dT 法と比較して収率(80%)、純度(82-86%)は遜色ない。本法の特徴は、低コスト、簡便な操作性、多サンプル一括処理、等にあり、ポストゲノム等への応用が広い。本件は、福岡県生物食品研との共同研究であり、福岡県内のB社とともに、mRNA の自動分離装置を試作し、今秋～来春の展示会に出品する予定である。

（５） 機能性材料の開発： $\beta$ 1,3 グルカンの特性であるラセン形成過程での分子の取り組みや水溶性等を新規コンジュゲート材料創成へ応用した。その結果、カーボンナノチューブ (CNT) の優れた可溶化剤となることがわかり、CNT の応用に途を開いた（特許出願）。その他  $\beta$ 1,3 グルカンの化学修飾法の開発も進み、材料設計の指針となる結果が次々と得られている。（随時特許出願）

また新海教授は2004.3月日本化学会賞、2004.11月紫綬褒章を受賞。

## 4. 中間評価結果

### 4-1 研究の進捗状況と今後の見込み

本研究プロジェクトは、シゾフィラン、カードランなどの $\beta$ -1,3-グルカンが核酸 (DNA, RNA) と安定な複合体を形成するという新海教授らの発見を端緒として、この発見をバイオ領域への技術開発に生かそうという発想にもとづいている。現在までに $\beta$ -1,3-グルカンの mRNA への結合を利用した mRNA 分離精製システムの開発では実用化段階にきている。また遺伝子デリバリー、アンチセンスデリバリー、CpG モチーフデリバリー等の DNA デリバリーシステムに関する開発についても独自性の高い技術となっている。さらに高分子化学に基づく分子認識に関するポテンシャルを駆使した新しい材料設計も一段と進んでいるので、原理的にも応用的にも従来のものと一線を画する技術となりうる。今後も大いに期待がもたれるので、異分野間の交流も含め、一層のリーダーシップの発揮を望む。

### 4-2 研究成果の現状と今後の見込み

糖鎖/核酸の広い範囲での相互作用とそのバイオ関連領域における活用のためのメカニ

ズムの解明、さらに疎水性カーボンナノチューブとの相互作用など科学的には知られていなかった分子認識ジャンルに太いメスを入れた。また技術的には mRNA 分離に見られる実用技術の開発などインパクトの高い成果を上げている。本研究はリーダー独自の発見に立脚したものであり学術的意義のみならず革新的技術に発展する可能性が大である。

#### 4-3 総合的評価

本研究は多糖-核酸相互作用に関する画期的発見に基づく研究である。そして基礎的な面だけでなく応用面でもすばらしい成果が得られつつあり、その成果は極めて高く評価される。

本研究は多糖系遺伝子マニピュレーターの新製という遺伝子輸送関連の研究を目的としているが、研究過程で得られた新手法の適用・応用範囲の広がりには図り知れないものを感じる。生体に優しいグルコース単位からなる多糖シズフィランは構造修飾が可能であり、現時点では予測できないような新機能を持った多糖が人工的に誕生する可能性もある。また、生体（ヒト）に優しい方法による薬剤などの疎水性化合物の特異的ターゲティングは、今後、創薬科学のハイライトになることは確実であり、本研究がその分野の進展に果たす役割は極めて高いと考えられる。本研究のさらなる発展のためには、生物学や医学など関連学術分野との幅広い連携の強化が急がれる。

なお、本件は重要な国産技術であり、基幹特許ばかりか応用特許やノウハウまで、知的所有権を十分に確保する必要がある。そのためには、研究体制のさらなる強化（特に応用面での新たな研究者の参画）と必要な財政的支援を図るべきである。