

細胞外微粒子に起因する生命現象の解明と
その制御に向けた基盤技術の創出
平成 30 年度採択研究代表者

2018 年度
実績報告書

二木 史朗

京都大学化学研究所
教授

細胞外微粒子の細胞内運命の解析と制御

§ 1. 研究成果の概要

「マクロピノサイトーシス」は細胞外微粒子の細胞内取込の中心的役割を担う経路である。本研究では、細胞外からの微粒子が細胞にどのように取り込まれ、どのような運命をたどるのかを、様々な性質を持つ微粒子と新しい細胞環境検出系を用いて明らかにし、細胞外微粒子が生命現象に与える影響を化学・生物・薬学的見地から理解する「細胞動態工学」を樹立することを目指している。

2018 年度は、各研究項目の遂行のための系の立ちあげに注力した。成果として、研究代表者(二木史朗)が開発したエンドソーム不安定化ペプチド L17E の細胞内送達機序に関して詳細な検討を行い、新たな細胞内送達概念を得た。さらに、新規の細胞外微粒子・高分子量タンパク質の細胞内導入ペプチドの開発を行った(出願準備中)。森井グループでは、「細胞内環境測定多元同時センサーの開発」を目指し、その一端として、マクロピノソーム内の pH 変化をレシオ検出できるセンサーを構築した。複数の蛍光色素を配置した DNA ナノ構造体が、マクロピノサイトーシスを経由して効率的に細胞内に取り込まれることを確認した。さらに、マクロピノソーム内 pH が酸性へと変化する過程をリアルタイムに検出できることを確認した。新留グループでは、様々な素材、形状、表面電荷をもつナノ粒子の作製を開始した。金ナノ粒子では、球状および棒状のナノ粒子を、ポリエチレングリコールや荷電ポリマー、また、シリカでコートし、中性、カチオン性、および、アニオン性のナノ粒子を作製した。銀ナノ粒子は、金原子で表面コートし、その分散安定性を高めることに成功した(Harada et al., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 2018)。ポリマーナノ粒子では、表面がアニオン性のポリ乳酸ナノ粒子も作製した。これら粒子の細胞内取り込みについて、あるいは、マクロピノサイトーシスへの影響を解析する手法について二木グループと準備を開始した。

【代表的な原著論文】

1. Yoshimasa Kawaguchi, Shoko Ise, Yusuke Azuma, Toshihide Takeuchi, Kenichi Kawano, Toan Khanh Le, Junko Ohkanda, and Shiroh Futaki.

- “Dipicolylamine/metal complexes that promote direct cell-membrane penetration of octaarginine”, *Bioconjug Chem.*, 30(2), pp454-460, 2019
2. Ayaka Harada, Hiroaki Ichimaru, Takayuki Kawagoe, Masayuki Tsushida, Yasuro Niidome, Hiroyasu Tsutsuki, Tomohiro Sawa and Takuro Niidome, “Gold-treated silver nanoparticles have enhanced antimicrobial activity”, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 92(2), pp297-301, 2018

§ 2. 研究実施体制

(1) 二木グループ

- ① 研究代表者: 二木 史朗 (京都大学化学研究所 教授)
- ② 研究項目
 - ・細胞外微粒子の細胞移行ゲートとしてのマクロピノサイトーシスの理解の深化
 - ・微粒子の細胞内(サイトゾル)への送達指針の樹立
 - ・エクソソームを介した細胞間情報伝達経路へのマクロピノサイトーシス関与の検討

(2) 森井グループ

- ① 主たる共同研究者: 森井 孝 (京都大学エネルギー理工学研究所 教授)
- ② 研究項目
 - ・エンドソーム内環境センサーの開発
 - ・バイオセンサー素子の開発
 - ・マクロピノサイトーシス関連細胞環境変化多元同時センサーの開発

(3) 新留グループ

- ① 主たる共同研究者: 新留 琢郎 (熊本大学大学院先端科学研究部 教授)
- ② 研究項目
 - ・様々な素材、形状、表面電荷をもつナノ粒子の作製
 - ・各種細胞へのナノ粒子の取り込みと取り込み経路の評価実験系構築
 - ・マクロファージと非マクロファージにおけるマクロピノサイトーシスの異同の検討