

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	両親媒性ペプチドを用いた革新的細胞核内物質導入技術の開発
研究機関・部局・職名	京都大学・生命科学研究所・准教授
氏名	吉村 成弘

【研究目的】

遺伝子発現の場である核内部は、核膜によって細胞質と隔てられており、細胞質と核との物質移動はすべて核膜上に存在する核膜孔複合体を通して行われる。非分裂細胞における遺伝子導入や核内タンパク質をターゲットとしたドラッグデリバリーでは、核膜のバリアをいかに越えるかがそのまま核内への導入効率と密接に関係している。細胞外から細胞内への物質導入技術はこれまでに盛んに研究がなされている。一方、核内へのルートにおける最後の障壁である核膜に関しては、多くの基礎研究が行われてきたにもかかわらず、実用化技術の確立にまでには至っておらず、今後の革新的技術が期待される分野である。本研究課題は、両親媒性の天然タンパク質群が持つ核移行能力に着目し、その性質や構造をナノスケールで模倣・改変することで、これまでにない高い効率で核内へ物質を導入するためのナノキャリアを開発し、これを用いて“細胞外から核まで”の統合的物質導入システムを構築することを目的とする。この両親媒性ペプチドは、細胞内で核内外輸送を担うタンパク質群（インポーターやエクスポーター）が実際に用いているメカニズムに基づいてデザインされるものであり、その精巧性、柔軟性ならびに拡張性は、現在の遺伝子導入法やドラッグデリバリーシステムに利用されている高分子をはるかに凌ぐものである。よって、ここで得られる成果および確立される技術は、近い将来に組織や個体に応用され、革新的なナノ医療技術として発展する可能性をおおいに含んでいる。これまでのドラッグデリバリー分野で築き上げられてきた知見や技術に新たな革新的技術を統合して構築される本システムは、「多様な分野の科学的・技術的知見の「統合」によるブレークスルー技術の創出」に相当する点でライフ・イノベーションの推進に大きく貢献すると思われる。

【総合評価】

<input type="checkbox"/>	特に優れた成果が得られている
<input type="checkbox"/>	優れた成果が得られている
<input type="radio"/>	一定の成果が得られている
<input type="checkbox"/>	十分な成果が得られていない

【所見】
① 総合所見
<p>当初の目的は一定程度達成したと考えられる。</p> <p>核内への高い輸送能力を有するペプチドを探索するために、5種類のモチーフから合計50以上の配列をデザイン、合成し、核内への移行能力を検証した。また、細胞が有している内在性キャリアの構造的性質を詳細に解析することにより、両親媒性構造の柔軟性が重要な役割を果たしていることを突き止めた。これらの成果を統合し、5-10倍の核輸送能力を持つキャリアの開発に成功した。小型で高い輸送能力を有し、かつ調製・加工が容易なこのキャリアは、これまでに類を見ない新規性と独自性があり、ライフサイエンス、特にドラッグデリバリー分野において大きな貢献をするものである。当初研究計画で策定したナノカプセルの開発に向けて、今後はより一層の努力を期待する。なお、知財関連の指摘事項への対応については不適切でその重要性、戦略性が十分理解されていない。</p> <p>研究実施体制、知財関連にやや問題があるが、マネジメントもおおむね適切であり、助成金の執行状況は問題ない。</p>

② 目的の達成状況
<p>・所期の目的が <input type="checkbox"/>全て達成された ・ <input checked="" type="checkbox"/>一部達成された ・ <input type="checkbox"/>達成されなかった)</p> <p>研究目的は一定程度達成されたと考える。</p> <p>(1) 高い核移行能を有する両親媒性ペプチドの設計・最適化・通過原理の理解</p> <p>両親媒性モチーフの抽出、検討、作成、改変を行い、核膜孔を通過しやすいモチーフの作成に成功した。また、通過基本原理に関する基礎研究から得られた知見をモチーフのデザイン、改変に活用し、より通過能の高いモチーフの作成に貢献した。通過原理に関する研究成果は現在論文投稿済みで公表されている。当初の目的をほぼクリアした結果である。</p> <p>(2) 細胞膜通過および細胞選択性モジュールの付加および検討</p> <p>膜透過性ペプチドであるtatペプチドと両親媒性ペプチドを結合させ、細胞外から核内への輸送キャリアを作成した。両ペプチドの機能を失うことなく結合させるのに、当初の計画以上の時間を要したため、細胞選択性モジュールの付加に遅れが生じている。このことからほぼ達成と考えられる。</p> <p>(3) 輸送物質の封入・放出技術の統合とシステム構築、実用化</p> <p>DNAをナノゲル粒子に封じ込め、両親媒性ペプチドと結合させる技術を確立した。GFPをコードする遺伝子をナノゲルに封じ込め、その発現量を蛍光強度で定量化した。今後の更なる検討が必要であり、ほぼ50%の達成率と考える。</p>

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

両親媒性タンパク質 (importin β) が核膜孔を通過するときに、二次構造を維持したまま三次構造を大きく変化させること、および他の両親媒性タンパク質においても importin β と同じメカニズムが作動していることを明らかにできたことは、先進性・優位性に優れた研究成果である。本研究課題の目的である、①高い核移行能を備えた両親媒性ペプチドの同定、②細胞膜透過および細胞膜選択制モジュールの付加、③システム統合の3つの目的が達成された場合、ライフ・イノベーションにつながるブレークスルー技術となる可能性はある。しかしながら上記2)、3)の検討課題が未達成であることから、今後の検討が必要であろう。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

本研究課題においてこれまでに得られた成果は、以下の重要性を有する。

i) 核膜孔通過原理の基本的理解

本研究では、内在性のタンパク質が有する柔軟な両親媒性構造に着目し、その構造的特性が核膜孔通過にいかに関与しているかを明らかにした。これは、核-細胞間物質輸送の研究分野に新しい知見をもたらすものであり、これまで「謎」とされていたメカニズムに大きな一歩をもたらすものである。

ii) ペプチドを用いた核膜孔通過モジュールの開発

本研究は、柔軟な両親媒性モチーフを小型化、最適化してドラッグデリバリーキャリアを構築することを目的としている。これまでに、100 アミノ酸以下の小さいモチーフを用いてアルブミンやオバルブミンなどの、核膜孔を通過しにくいタンパク質の核移行性を、3-10 倍高めることに成功している。分子量の低いペプチドを用いた核移行の促進はこれまでに前例がなく、その重要性は大きい。

本研究課題の成果によって、細胞膜および核膜を通してのドラッグデリバリーや遺伝子導入が可能となり、ナノ医療に大いに貢献する。DDS や遺伝子治療を含むナノ医療技術は、元来日本が世界をリードする技術分野である。したがって、本研究の成果をベースに開発される「細胞膜・核膜透過による物質導入技術」は、日本発の革新的医療技術になりうる。細胞核内物質導入技術を遺伝子導入やドラッグデリバリーへ応用することによって、医療技術分野への貢献が期待できるとともに、新たな治療法を提供するという意味において産業界にも貢献できると考えられる。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが（行われた ・ 行われなかった）

研究実施マネジメントはおおむね適切に行われている。指摘事項にも対応しているが、知的財産権については問題がある。特許出願を準備しているとされているが、知財関連の指摘事項への対応について十分な取り組みとはいえない。

雑誌掲載論文 15 件、学術発表 16 件がある。

スーパーサイエンス高校を対象に 10 件の特別講義と実習を実施し、一定の成果を認めるものの、国民との科学・技術対話・発信という視点からは対象が狭く、市民講座やメディアを利用した一般的広報活動などが実施されていない。