



東北大学



平成 25 年 6 月 13 日
東北大学大学院医学系研究科
東北大学病院

ウイルス由来のペプチドでナノロボットを作成

東北大学病院の鈴木康弘講師らの研究グループは、量子ドット^(*)と呼ばれる蛍光ナノ粒子上にウイルス由来のペプチドを 8 個、固層化することで、ナノ粒子にナノロボットとしての性質を付与できることを発見しました。

ナノ粒子を用いた治療法は、21 世紀の革新的な医療技術として注目を集めています。今回、鈴木講師らは、ウイルス由来のペプチドを固層化したナノ粒子に、単一粒子ごとに細胞表面に局所的な刺激を加えることで、個々の粒子が細胞膜上を方向性を持って移動し、その後細胞膜上から細胞内に取り込まれて侵入する性質を示すことを明らかにしました。この技術を活用することで、さまざまな性質のナノ粒子、高分子化合物、高分子薬物をナノロボット化して細胞内に侵入させることが可能となり、ナノ粒子を用いた医療技術の発展に大いに貢献できると考えられます。

本研究は、日本学術振興会 挑戦的萌芽研究および科学技術振興機構研究成果最適展開支援プログラム A-STEP によりサポートされ、東北大学大学院医工学研究科、産業技術総合研究所、東京大学大学院理学系研究科との共同研究として実施されました。成果は、2013 年 6 月 3 日付（米国時間）でアメリカの専門誌「Molecular and cellular biology」オンライン版に掲載され、雑誌 8 月号に掲載されます。

【研究内容】

ナノ粒子を用いた医療技術が 21 世紀の革新的な治療法として注目を浴びている。ナノカプセル内に蛋白質や薬物を封じ込めて、目的とする細胞へ送り届けたりする技術（ナノドラッグデリバリーシステム技術）や、様々な性質のナノ粒子を目的とする細胞（がん細胞等）へ送り込み、その後、外から物理的な変化を加えて、がん細胞を破壊したりする技術への応用が期待されている。

しかし、細胞は脂質 2 重膜で包まれており、ナノ粒子を細胞内に侵入させることは容易でない。そこで、効率的にナノ粒子を細胞内に侵入させる技術の開発が求められている。

今回、研究グループは、蛋白導入ドメイン^(**)という分子に注目して研究を行った。蛋白導入ドメインはヒトを含む様々な生体内タンパクに認められる 10-20 アミノ酸配列で、それを様々な高分子化合物に結合させることで細胞内に導入させることが可能であることが知られてきた。

しかし、①どのような分子機序で細胞内に入るかということ、②さらに細胞内導入効率を上げるにはどのように改良したら良いかという点について十分に明らかにされてこなかった。

研究グループは HIV-1 ウイルス由来の蛋白導入ドメインを結合させた蛍光ナノ粒子（量子ドット）を特殊な顕微鏡で観察することで、ナノ粒子の細胞上での運動を詳細に観察し、その細胞内侵入機序の詳細を明らかにした（図 1）。

その結果、蛍光ナノ粒子上に HIV-1 ウイルス由来の長さ 11 アミノ酸の蛋白導入ドメインペプチドを 8 個固層化するとナノ粒子は生細胞の表面上で局所刺激を引き起こし、方向性を持って運動する能力を獲得することを明らかにした。さらに、このナノ粒子は、局所刺激を引き起こして、細胞にエンドサイトーシス^(***)を誘導して細胞表面から細胞内に侵入していく能力を獲得したことが明らかになった（図 2）。このことから、蛋白導入ドメインペプチドを多数、固層化すると個々のナノ粒子は局所刺激を引き起こすことで、細胞上でロボットのように働き、細胞表面から細胞内に侵入する性質を獲得することが明らかになった。

従来型のドラッグデリバリーシステムでは細胞内への取り込みは「受動的」であり、濃度依存性に引き起こされていたために、濃度を一定以上に上昇させることが、細胞内への取り込みに必要であったが、濃度の上昇に伴い様々な副作用が起きていた。今回の発見では個々の粒子がナノロボットとしての性質を獲得し、

細胞内へ「能動的」に侵入するために、導入効率が良い。このために血中内濃度を上昇させなくとも、細胞内へ取り込まれ、細胞導入効率の飛躍的な改善と副作用の軽減が望まれる（図3）。今後、同様の手法を用いて、様々な性質のナノ粒子、ナノカプセル、高分子化合物、高分子薬物の細胞内導入法として活用されることが期待され、様々な癌の治療・診断や再生医療への応用が期待される。

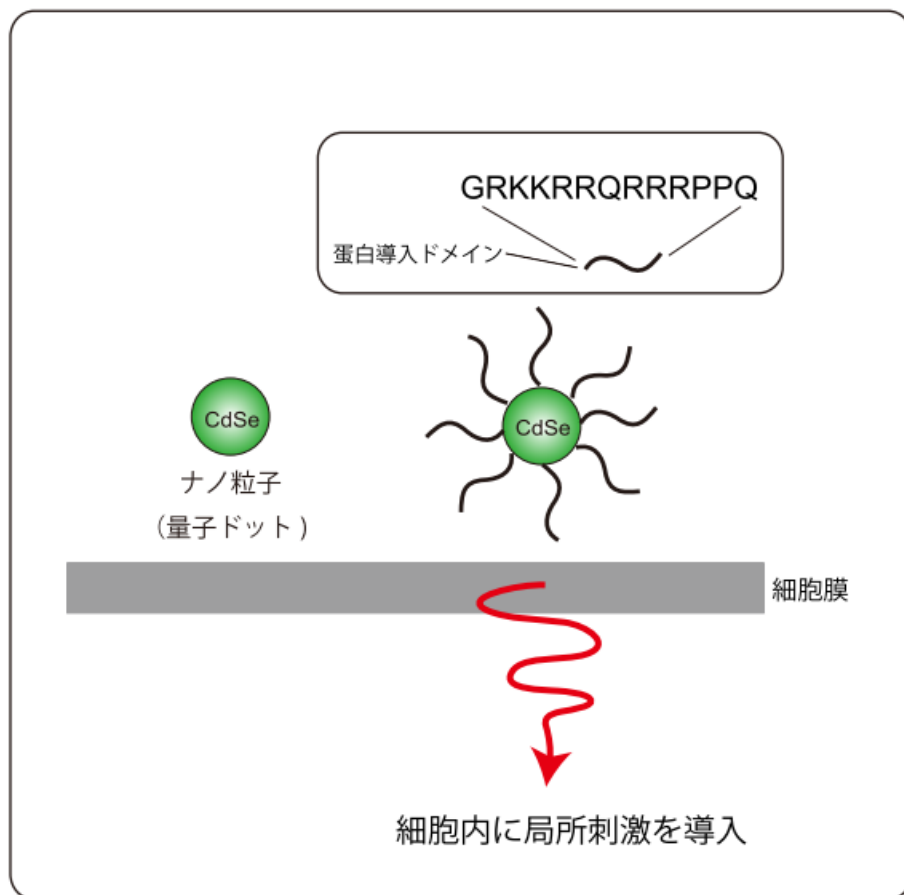


図1. 蛋白導入ドメインとナノ粒子

直径 20 ナノメートルの蛍光ナノ粒子上に HIV-1 ウイルス由来の長さ 11 アミノ酸の蛋白導入ドメインペプチドを 8 個固層化するとナノ粒子は生細胞の表面上で局所刺激を引き起こし、細胞運動能を獲得する。

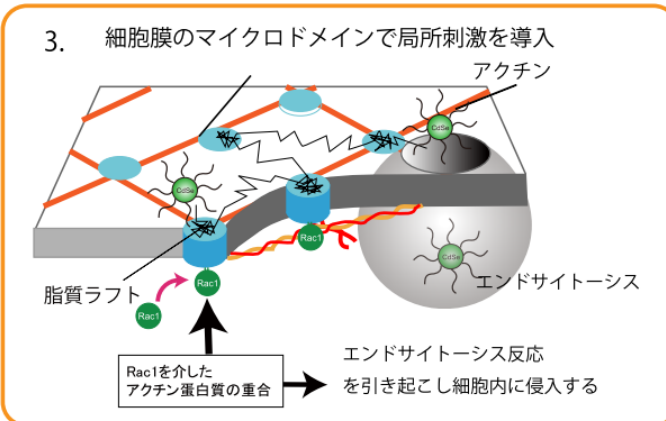
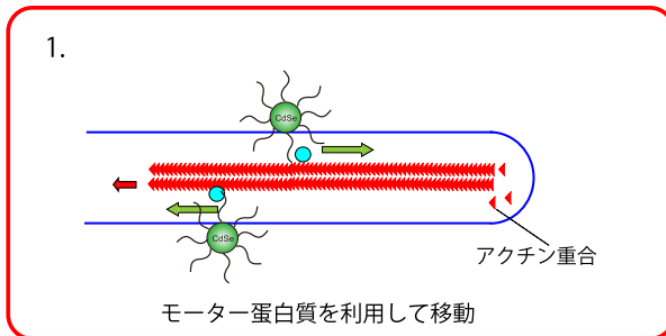
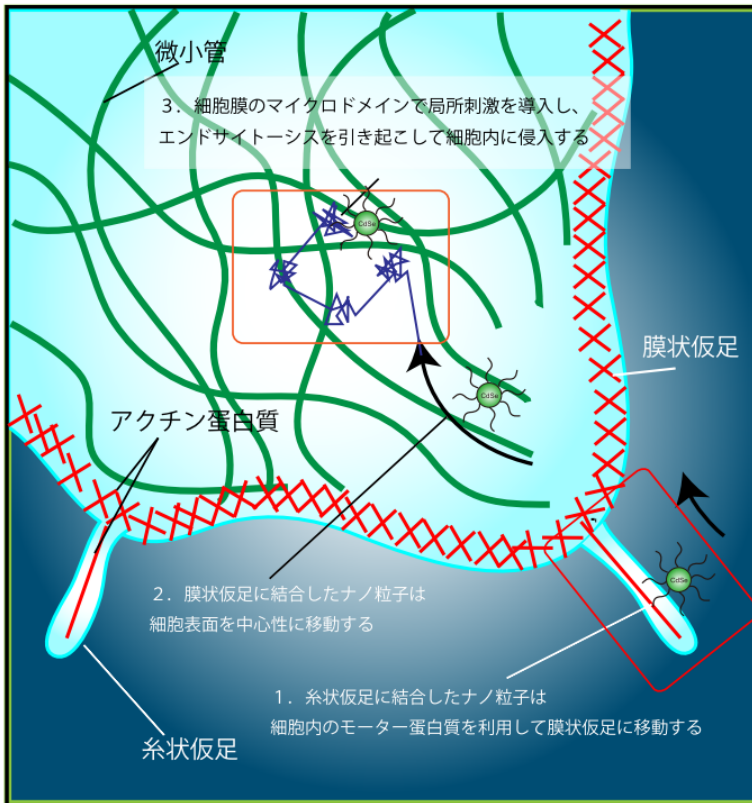


図2. 蛋白導入ドメイン固層化ナノ粒子の運動

HIV-1 ウイルス由来の蛋白導入ドメインを固層化したナノ粒子は生細胞の表面上で局所刺激を引き起こし、方向性を持って細胞上で運動する能力を獲得したことを明らかにした。1. 系状仮足に結合したナノ粒子は細胞内のモーター蛋白質を利用して膜状仮足方向に運搬され、2. 膜状仮足上に結合、もしくは移動したナノ粒子は細胞表面を微小管及びアクチンミオシンを介して中心性に運ばれ、3. その後、細胞膜上のマイクロドメインから局所刺激を細胞に引き起こし、エンドサイトーシスを活性化して、細胞内に侵入する。

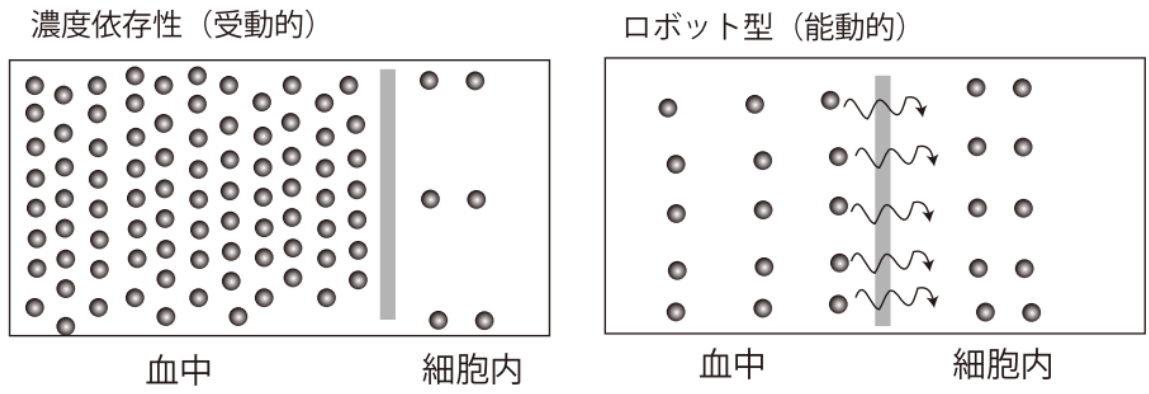


図3. 濃度依存性 (受動的) とロボット型 (能動的) の違い

従来型のドラッグデリバリーシステムでは細胞内への取り込みは「受動的」であり、濃度依存性に引き起こされていたために、血中濃度の上昇が必要であった。しかし、今回の技術では個々の粒子がナノロボットとしての性質を獲得し、細胞内へ「能動的」に侵入するために、導入効率が良く、血中濃度の低減が望める。

【用語説明】

- * 1 量子ドット：発光性の半導体ナノ粒子で、直径の範囲は1~20 ナノメートル (10^{-9} メートル)。
- * 2 蛋白導入ドメイン：細胞膜を通過し、細胞内に移行することができるペプチド。最初に見つかったHIV-1 Tat タンパク質由来のものほかに、ヒトを含む様々な種類の生物から発見されており、タンパク質などと結合させることで細胞内に物質を導入し機能させるツールとして注目されている。
- * 3 エンドサイトーシス：細胞が細胞外の物質を取り込む過程の1つ。細胞の表面から膜が細い管状に細胞内に落ち込んで、その管の首の部分がくびれることによって細胞内に細胞表面に吸着した分子を取り込む現象。

【論文題目】

Single quantum dot tracking reveals that an individual multivalent HIV-1 Tat-protein transduction domain can activate machinery for lateral transport and endocytosis (Molecular and cellular biology)

「HIV-1 Tat 細胞導入ドメインを多価で付加することで、個々の分子が細胞膜上の水平移動およびエンドサイトーシスを引き起こすことを一分子量子ドット追跡で明らかにした」(Molecular and cellular biology (分子細胞生物学雑誌)8月号に掲載予定)

(お問い合わせ先)

東北大学病院総合感染症科

講師 鈴木 康弘 (すずき やすひろ)

電話番号：022-717-8220

Eメール：suzukiy39@med.tohoku.ac.jp

(報道担当)

東北大学大学院医学系研究科・医学部広報室

長神 風二 (ながみ ふうじ)

電話番号：022-717-7908

ファックス：022-717-8187

Eメール：f-nagami@med.tohoku.ac.jp