

オリゴDNA/RNA分子の細胞への取り込み促進と細胞内局在化制御

精密遺伝子導入法の確立に向けて

生体分子は細胞内で生合成された後、それぞれが機能を発揮する場所に輸送されるためのシグナルを分子中に有しており、輸送タンパクによって認識・輸送される。一方、短鎖のDNAあるいはRNA(オリゴDNA/RNA)はその相補的配列を持つ特定の遺伝子の発現を制御することが知られており、遺伝子医薬や遺伝子機能解析ツールへの応用が期待されている。しかし、これまでの方法ではオリゴDNA/RNAを毒性なく精密に細胞内に導入することは困難であり、また、細胞内に導入されたとしても速やかに分解されてしまうことから細胞内、生体内で効率良く機能を発揮することは不可能であった。

我々は独自に開発した固相フラグメント縮合法¹⁾により輸送シグナルペプチドやその他の機能性生体分子をオリゴDNA分子上に集積化した数種のバイオナノ構造体を構築した(表)。これらを有機系蛍光色素で標識後、細胞との相互作用を共焦点レーザー蛍光顕微鏡で調べたところ、核局在化シグナルペプチドを持つものは核に、また、核外輸送シグナルペプチドを持つものは細胞質に、それぞれ安

定に存在していることが確認され、これまでに効率よく細胞への取り込みの促進と細胞内での局在化制御が可能であることが明らかとなった(図)。さらに、その機能集積化オリゴDNAによって特定の遺伝子発現を強く抑制できることを主にヒト白血病細胞に発現するテロメラーゼ(細胞不死化をもたらす酵素)やチロシンキナーゼ(細胞の増殖に関与する酵素)を標的として証明した。

このような機能集積化オリゴDNA/RNAはその配列を変化させることにより任意の遺伝子を標的とすることができる。これらの結果をもとに、今後は細胞内での所在をより厳密に制御できる精密遺伝子導入法を確立し、薬物精密デリバリーツールとしての実用化を目指す。また、ゲノム情報に基いた遺伝子機能解析ツールや一塩基多型解析ツールとしてキット化(マイクロチップ化)し、実用化を目指す。これらのキットはゲノム医療、ゲノム機能(プロテオーム)解析に重要なツールとなり、その分野の研究の推進に大きく貢献するものと考えられる。



N2: 5'-CAGTTAGGGTTAG-3' (Antisense sequence: Telomerase)

No.	DNA	Peptide	Type of Peptide
C1	N2	PKKKRKV	SV40 T antigen (NLS*)
C2	N2	GRKKRRQRRRPPQC	HIV-1-Tat (NLS)
C3	N2	ALPLERLTL	HIV-1 Rev (NES**)

*NLS (Nuclear Localizing Signal) :核局在化シグナルペプチド

**NES (Nuclear Export Signal) :核外輸送シグナルペプチド

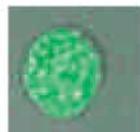
表 設計・合成した機能集積化オリゴDNA/RNA



FL-C1
(SV40 NLS)



FL-C2
(HIV-1 Tat NLS)



FL-C3
(HIV-1 Rev NES)

図 共焦点レーザー蛍光顕微鏡による機能集積化オリゴDNAの細胞内局在化観察
細胞: Jurkat (ヒト急性リンパ性白血病細胞)
FL: fluorescein isothiocyanate



おおばひでき
大庭英樹
h.ooba@aist.go.jp
単一分子生体ナノ計測研究ラボ

関連情報

- 共同研究者: 藤井政幸 (近畿大学九州工学部), 田村和夫 (福岡大学医学部), 明日山康夫, 松木園美穂 ((株) ジーンネット) .
- 1) T. Kubo, M. Morikawa, H. Ohba, and M. Fujii :Organic LETTERS, Vol. 5 (15), 2623-2626 (2003).