

GS02-7 エンドソーム不安定化ペプチドを用いた細胞内への機能性タンパク質の導入

○秋柴 美沙穂¹, 武内 敏秀¹, 川口 祥正¹, 坂本 健太郎¹, 中瀬 生彦², 二木 史朗¹

¹京大化研, ²大阪府大 NanoSquare 拠点研究所

タンパク質を細胞外から細胞内に導入する研究が広く行われている。これは、外来の機能性タンパク質による細胞機能制御を目的とした試みであり、生命科学研究や医薬への応用が期待できる。ここでは一般に、目的のタンパク質をエンドサイトーシスによって取り込ませた後、エンドソームから脱出させる経路が利用される。従来手法では、送達するタンパク質の大部分がエンドソームに滞留するため効率が悪かった。従って、より強力にエンドソームからの脱出を促進させる方策が必要とされている。

我々は、クモ毒由来の膜傷害性ペプチドの配列を改変することで、新規のエンドソーム不安定化ペプチド (L17E, IWLTKFLGKHAACKHEAKQQLSKL-amide) を開発した。L17E は、鋳型ペプチドの強い膜傷害性をエンドソームでのみ発揮させるために、ペプチドの疎水性面に酸性アミノ酸 (Glu) を導入したものである。L17E は野生型に比べ約 30 倍細胞毒性が低減しており、さらにペプチドとタンパク質を共に細胞に取り込ませたとき、エンドソーム内包物のサイトゾルへの放出が確認できた。これは、酸性アミノ酸の導入によって、エンドソーム選択的な膜傷害活性が得られたことを示唆している。L17E は酸性脂質を含有した膜に選択的に作用し、マクロピノサイトーシスを誘導してタンパク質の細胞内移行を促進する性質を持つことがわかった。さらに、L17E を用いて抗体を導入することで、細胞内の標的分子の認識、および標的分子の活性抑制が可能であることが確認された。