

肝細胞特異的転写因子タンパク質の細胞導入による肝細胞機能制御

工学部 生命医療工学科 生体材料工学研究室 中野 智貴 二見 翠

Keywords:細胞機能制御、タンパク質導入技術、再生医療

1. 研究背景

現在、肝不全などの重症肝疾患の主要な治療方法は臓器移植である。臓器移植には、ドナー不足の問題があることから体外で肝機能を有した細胞の安定供給技術が肝臓の再生医療では重要である。しかし、細胞を体外で培養する場合、細胞が増えないことや機能を維持できない問題がある。当研究室では生きた細胞にタンパク質を導入するカチオン化法を細胞機能制御技術に発展させる研究に取り組んでいる。カチオン化法とは、化学修飾によりタンパク質に正の電荷を付加し、負の電荷に富む細胞表面に吸着させて細胞内に取り込ませる技術である。本研究では、肝機能の中心的な役割を担っている HNF-4 α 転写因子に注目し、カチオン化法による HNF-4 α タンパク質の細胞導入と細胞内での機能発揮を目標に研究を行いました。

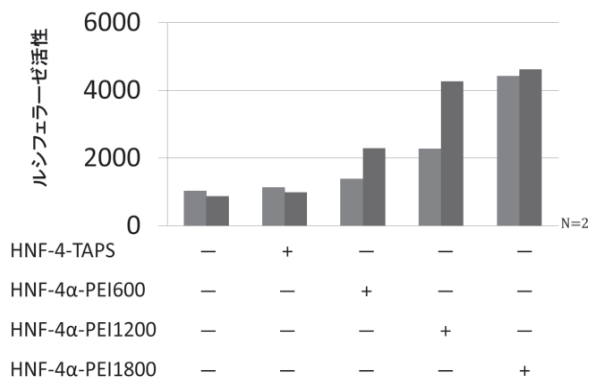
2. 方法

HNF-4 α タンパク質を大腸菌を宿主として生産したところ、不活性で不溶性のインクルージョンボディとして得られた。これを変性剤により溶かし、ジスルフィド結合を介して4級アミンまたはカチオン性ポリマーであるポリエチレンイミン(以降 PEI と略す)を導入し、変性剤を除いた。PEI は平均分子量 600 または 1200、1800 のものを用い様々な電荷をもつ変性カチオン化 HNF-4 α を作成した。得られた HNF-4 α タンパク質誘導体を HeLa 細胞に導入し、細胞核内における HNF-4 α 活性をルシフェラーゼアッセイにより評価した。また、RT-PCR 解析により HNF-4 α 転写因子が標的とする内

在遺伝子の発現誘導を解析した。

3. 結論

得られた HNF-4 α 誘導体の中で PEI1200 及び 1800 で修飾したものは変性剤非存在下で特に溶解度が高かった。HeLa 細胞に導入した各種変性カチオン化 HNF-4 α タンパク質のなかで、PEI1800 で修飾した HNF-4 α (HNF-4 α -PEI1800) の細胞内での活性が最も高い傾向にあった。また RT-PCR 解析により HNF-4 α の下流遺伝子として知られている APoCIII の発現が HNF-4 α -PEI1800 の導入により誘導された。以上の結果からカチオン化法により HNF-4 α タンパク質を細胞に導入、細胞内での機能発揮を確認することに成功した。



4. 今後の展開

HNF-4 α タンパク質の導入効率を改善するとともに、他の肝機能を担うタンパク質の導入方法を確立し、HNF-4 α との共導入・逐次導入を行うことで、より効果の高い肝細胞機能効果を狙いたい。