

固相トランスフェクションにおける抗インテグリン抗体の効果

佐野 卓磨

トランスフェクションとは外来遺伝子を哺乳類細胞へ人為的に導入する手法の総称であり、1973年にリン酸カルシウム法が報告されて以来、多くの手法が開発されてきた。現在では遺伝子機能解析やタンパク質の生産など、すでに産業上のさまざまな用途に用いられており、遺伝子治療研究への利用も報告されている。

三宅らは、従来の手法とは異なる新しいトランスフェクション法を開発した¹⁾。従来の手法では細胞へ導入する遺伝子を培地に懸濁させるために、1つの培養スペースに1種類の遺伝子しか導入できない。これに対し、三宅らの開発した“固相リバーストランスフェクション法”では、チップ上に遺伝子をプリントし、その上から細胞を播種することで、プリントした範囲内の細胞にのみ遺伝子導入が可能である(図1)。これによりトランスフェクションの小型化と1つの培養スペースでの複数種類の遺伝子導入を実現し、初代培養細胞など希少細胞の解析や遺伝子導入の網羅的試験を容易に行える技術として期待されている。

一方、トランスフェクションの効率が低い細胞種も少なくないため、広い範囲の細胞種で高い効率を実現することが産業利用における大きな課題である。固相トランスフェクション法では細胞の接着面から遺伝子が入り込まれる。細胞接着に関わるECM(extracellular matrix:細胞外マトリックス)は食作用にも関係するため、この手法においては細胞接着を制御することで食作用を促進し、遺伝子導入効率を高めるのではないかと考えられる。ここでは、ECMやECMの受容体であるインテグリンを用いた固相トランスフェクション法の効率制御についての成果を報告する。

ECMによる遺伝子導入効率制御 ECMの一種であるフィブロネクチンをプリントしたチップを用いること

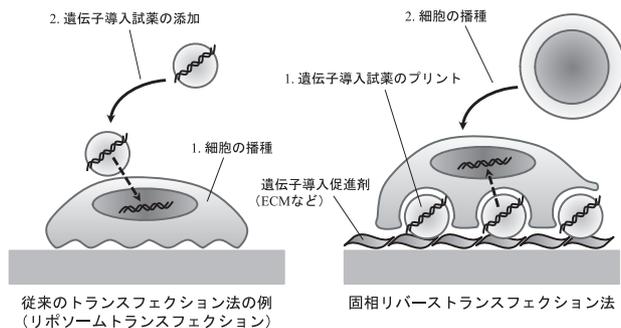


図1. トランスフェクション法の概略

でHeLaヒト子宮頸がん細胞やHepG2ヒト肝がん細胞など多くの接着性細胞の遺伝子導入効率が向上した²⁾。一方、ラット副腎褐色細胞腫由来PC12細胞については、フィブロネクチンの代わりにコラーゲンIVを用いることで効率が向上した³⁾。すなわち、細胞の種類に応じて適切なECMを用いることで遺伝子導入を促進できることが示された。

抗インテグリン抗体による遺伝子導入効率制御と適用範囲 固相トランスフェクションにおけるECMの有用性が示されたが、この手法の汎用性を高めるためには1つの物質であらゆる細胞種の遺伝子導入効率を向上させることが必要である。そこで、ECMの受容体として広く存在するインテグリンに着目した。インテグリンは α と β の2つのサブユニットから構成されるヘテロ2量体で、各サブユニットには複数のタイプが存在する。HepG2細胞とPC12細胞についてインテグリンの各サブユニットに対する抗体をチップにプリントして試験したところ、細胞表面上のサブユニットの発現量とそれに対する抗体による遺伝子導入促進の割合に相関が得られた⁴⁾。次に、ほとんどの細胞種に発現している β_1 インテグリンに対する抗体を用い、接着性細胞6種のほかにヒトT細胞リンパ腫由来Jurkat細胞とヒト慢性骨髄性白血病由来K562細胞の2種の浮遊性細胞についても試験した。なお、浮遊性細胞についてはBAM(biocompatible anchor for membrane)を用いてチップ上に固定した⁵⁾。その結果、接着性細胞については試験したものすべてで遺伝子導入効率が向上したが⁴⁾、浮遊性細胞については有意な向上は見られなかった。

以上のことから、浮遊性細胞へ適用するという課題は残るものの、抗 β_1 インテグリン抗体を用いた固相トランスフェクション技術は接着性細胞に汎用できる遺伝子導入のツールとして、細胞の表現型を指標とした遺伝子制御ネットワークを理解するための実用化が期待される。

本研究は独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構からの委託を受けて実施したものである。

- 1) 三宅正人: Bioベンチャー, 4(4), p.22, 羊土社 (2004).
- 2) Yoshikawa, T. et al.: J. Control. Release, 96, 227 (2004).
- 3) Uchimura, E. et al.: Neurosci. Lett., 378, 40 (2005).
- 4) Uchimura, E. et al.: J. Biosci. Bioeng., 104, 152 (2007).
- 5) Kato, K. et al.: Biotechniques, 37, 444 (2004).