

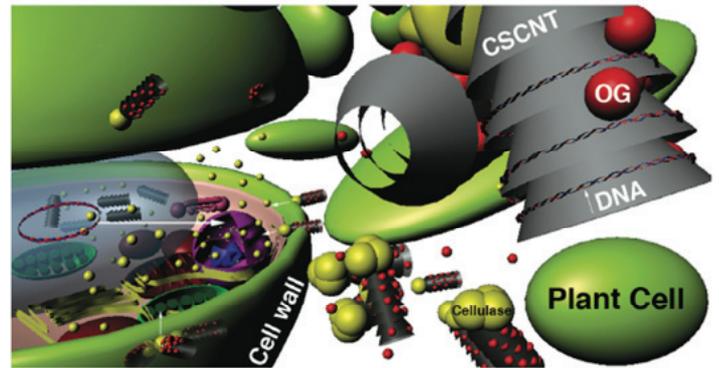
ナノバイオデバイスが拓く先端医療（1）

- 細胞への外来物質の導入 -

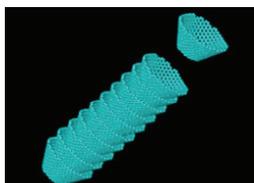
化学・生物工学専攻 応用計測化学研究グループ 馬場嘉信, 加地範匡, 安井隆雄

研究開発の概要

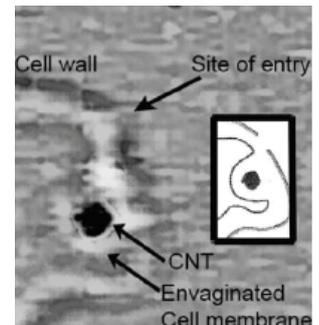
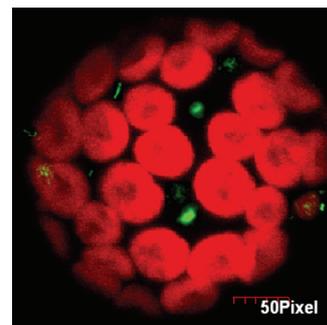
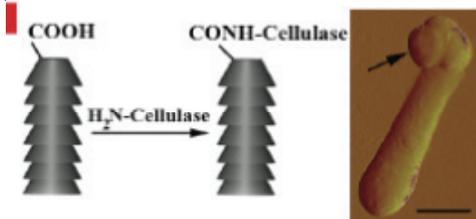
本研究は細胞壁を備える細胞内に核酸（DNA, RNA）、タンパク質等の外来物質を導入する方法に関わるものであり、特にカーボンナノチューブを利用する外来物質導入方法を提供する。DNAやRNAのようなポリヌクレオチド、タンパク質、脂質等の生体物質を外来物質として標的とする細胞内に導入するための種々の方法が知られているが、一般に動物細胞と比較して植物細胞に外来物質を導入することは困難である。植物細胞はセルロースを含む強固な細胞壁に包囲されており、当該細胞壁の存在が外来物質導入の障壁となるからである。本研究の外来物質導入方法では、細胞壁分解酵素が固定化されたカーボンナノチューブを使用することによって、標的細胞の細胞壁に微小な孔（ナノ・ホール）をあけることができる。そして、当該微小な孔から目的の外来物質を細胞内に導入することが可能となる。



導入方法の概要を模式的に示す説明図。



実施例において使用したカーボンナノチューブの形態を示す模式図及び顕微鏡写真。



セルラーゼ担持カーボンナノチューブが細胞壁を通過して細胞内に取り込まれる状態を示す顕微鏡写真。

新規性・独創性

この方法によって標的細胞の細胞壁に形成される孔は非常に微小であるため、処理後の細胞生存率は極めて高く、細胞が本来備える機能を維持している無欠陥細胞を得ることができる。また、細胞の取り扱いにも特別な慎重さを必要としない。従って、煩雑で手間のかかる操作を行うことなく、高い効率で目的の外来物質が導入された細胞を効率よく得ることができる。

応用例とその効果

標的細胞内で発現可能な遺伝子（ポリヌクレオチド）や遺伝子構築物（ベクター等）を導入することによって、目的の形質転換体を容易に得ることができる。

CSCNT-cellulase 濃度 [μg/mL]	OG含有濃度 [% (w/v)]	細胞懸濁液中の細胞数	導入細胞数	導入効率 [%]
100	—	100	3	3
100	0.75	123	8	6.5
100	6	97	10	10.3
100	10	109	22 (-15 fluorescent particles/cell)	20.2
100	15	97	17	17.5
200	—	103	5	4.8
100 (cellulase not attached)	10	100	9 (1-2 fluorescent particles/cell)	9
	—	93	0	0

標的植物細胞 (*Arabidopsis thaliana*) 内へ外来物質を導入するにあたり、界面活性剤 *n*-オクチル-β-D-グルコシド (OG) 及び細胞壁分解酵素セルラーゼが導入効率に及ぼす影響について調べた。OG含有細胞懸濁液のOG濃度が高いほど導入効率が大きくなることが示された。10% (w/v) のOG溶液に添加したとき最も導入効率が大きく20.2%であった。しかしながら、15% (w/v) のOG溶液に添加した場合は、10% (w/v) のOG溶液に添加したときの導入効率よりも小さくなり17.5%であった。また、OGを含有しない細胞懸濁液で導入を試みた場合、導入効率が3%と顕著に低下することが示された。一方、OGを含有しない細胞懸濁液、且つセルラーゼを担持しないカーボンナノチューブを用いた場合では導入効率が0%であったのに対し、セルラーゼを担持しないカーボンナノチューブであっても10% (w/v) のOGを含有するOG溶液に添加した場合は導入効率が9%であった。このことから、効率良く植物細胞内への外来物質を導入するには、OGとセルラーゼの存在、特にOGの存在が関係することが示された。また、導入効率はOG溶液の濃度に依存することが示された。

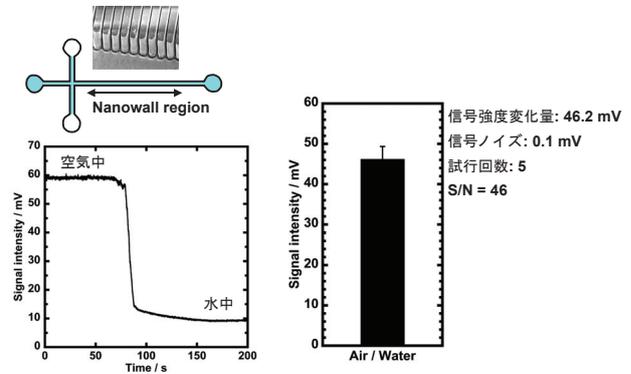
ナノバイオデバイスが拓く先端医療（2）

- 新規無標識検出法の開発 -

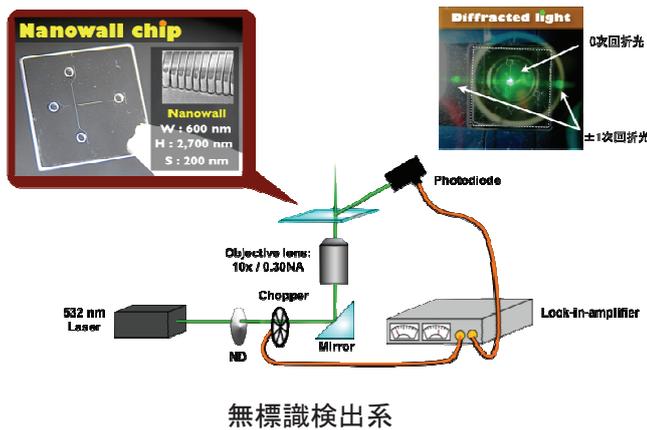
化学・生物工学専攻 応用計測化学研究グループ 馬場嘉信, 加地範匡, 安井隆雄

研究開発の概要

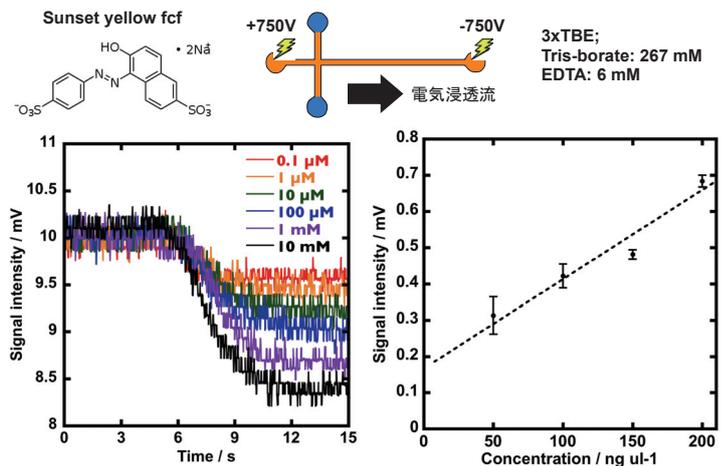
ナノ構造体の生体分子へのアプリケーションは、1枚のチップ上で、遺伝子診断を行う際のキラーアプリケーションとなりうるなど、ナノ構造体の生体分子解析への応用は有望視されている。従来のナノ構造体を用いた生体分子の分離解析のためには、前もって観察したい生体分子を蛍光標識化しておく必要があった。我々は、それらナノ構造体を持つナノ構造体特有の現象を用いて、新規無標識検出方法を確立した。また、無標識検出の概念検証、性能評価を行った。



空気から水の無標識検出



無標識検出系



サンセットイエロー(吸光性物質)の無標識検出

新規性・独創性

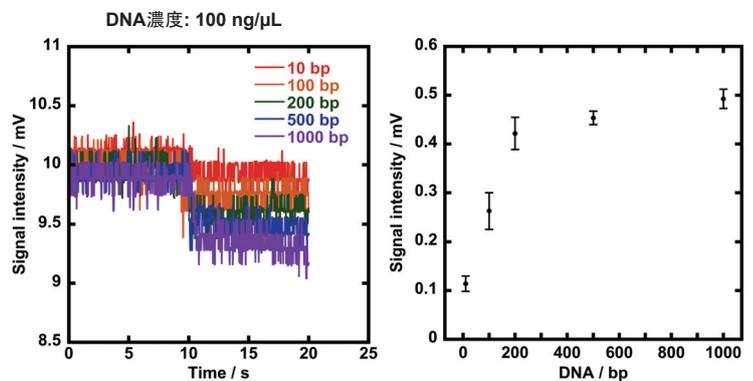
ナノ構造体に特有の現象の一つである回折光とナノ構造体が生み出すナノ流体を融合したナノ流体中に検体が流れる際に生じる回折光の強度変化を検出に用いる。他に類を見ない検出技術である。

応用

- ・生体分子の分離と無標識検出を1枚のチップで行うことができる。
- ・既存のその他ナノ構造体にも応用可能である。
- ・合成DNAの濃度と長さ評価。

企業への期待

無標識検出技術のニーズとのマッチングをとり、共同研究開発を進めたい。



DNA(非吸光性物質)の無標識検出

発明名称：ナノ構造体を利用した検出方法及び検出システム
特願2010-222528