

細胞膜と核膜の選択的透過処理による 高精度核可溶性成分の分画法

理化学研究所 環境資源科学研究センター
植物ゲノム発現研究チーム 研究員 小川 泰

2025年6月3日

タンパク質・RNA局在の重要性と創薬への応用

タンパク質やRNAの細胞内局在の重要性

細胞内でタンパク質やRNAがどこに存在するかは、機能と活性に大きな影響を与える

- ・核に局在する転写因子は、DNAの転写を制御
- ・ミトコンドリアに局在する酵素は、エネルギー代謝に関与
- ・細胞膜にある受容体は、外部シグナルの受け取りに関与
- ・間違った場所への局在化は、がんや神経変性疾患など病気の原因になる場合も

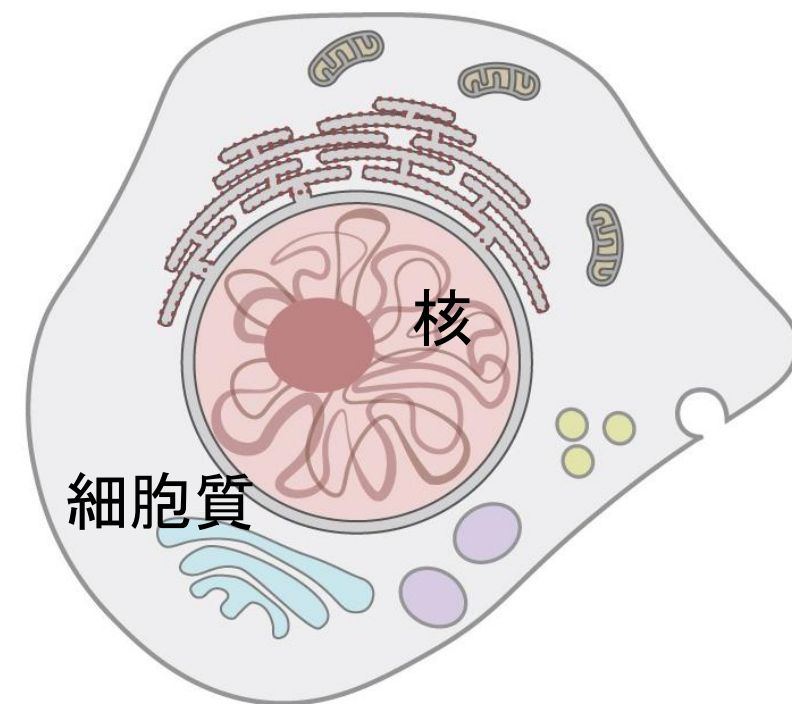
創薬のターゲットとしての有望性

- ・局在変化による特定の酵素や転写因子の活性調節
- ・局在制御や特定のコンパートメントに局在するものだけをターゲットにできれば薬効を強め、副作用を減らせる可能性も

可溶性核タンパク質の正確な分離を可能にする新技術

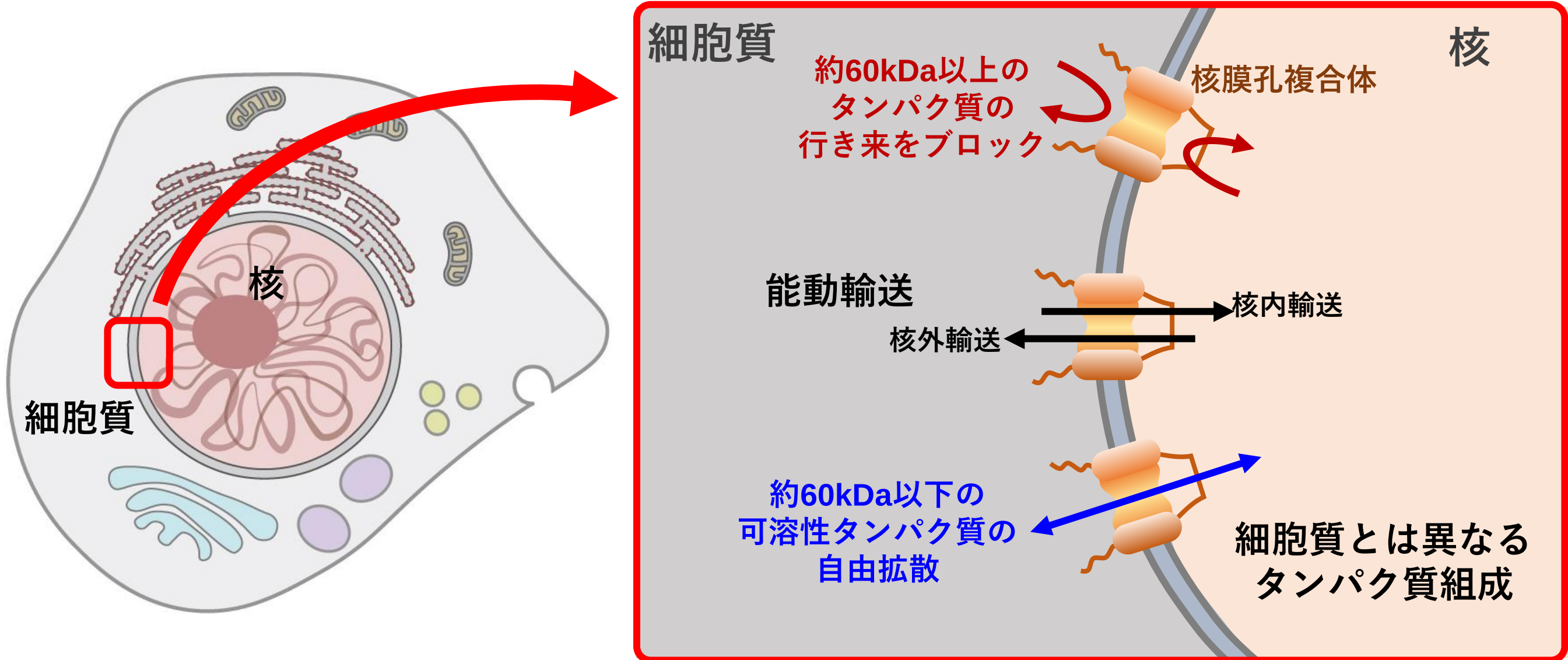
全ての遺伝子発現・転写を担う核内への転写因子などの局在化をコントロールすることは、創薬においても有望なターゲット技術の1つ

⇒核内のタンパク質やRNAを正確に知るための
定量技術・分画法が必要

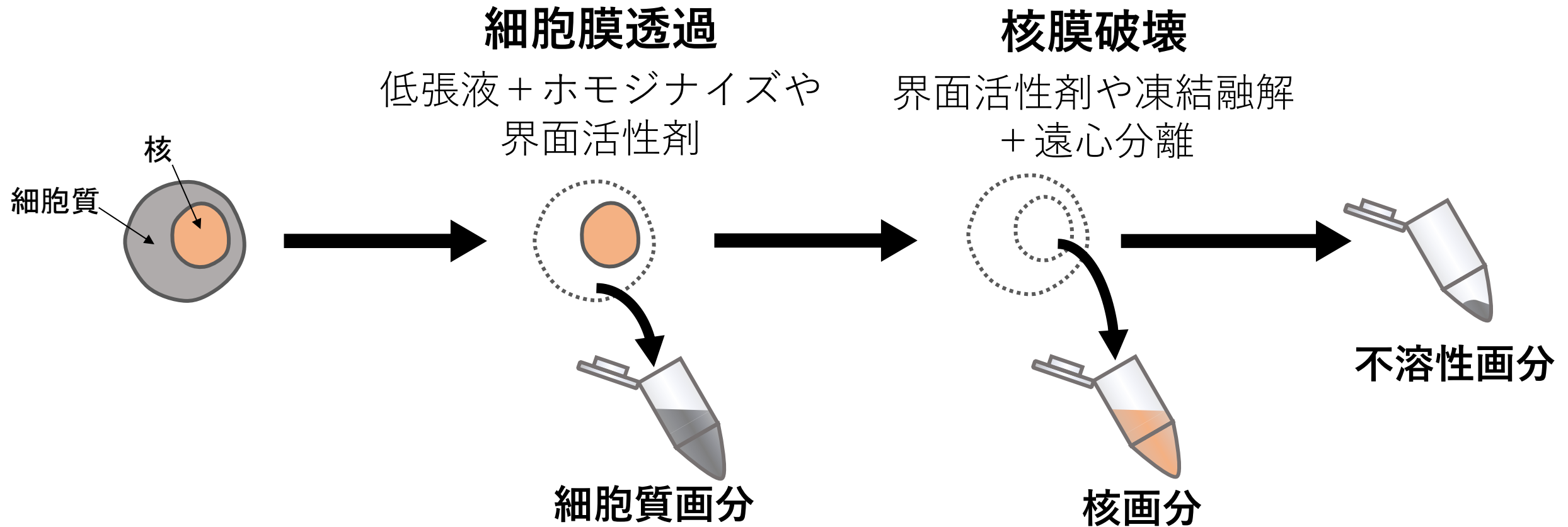


本技術は、ヒトなどの動物細胞内の可溶性のタンパク質・RNAを細胞質由来と核由来のものに簡便かつ正確に分離・分画するもの

核膜孔複合体による核内局在の制御



核・細胞質画分の分画プロセス



＜従来法の問題点＞

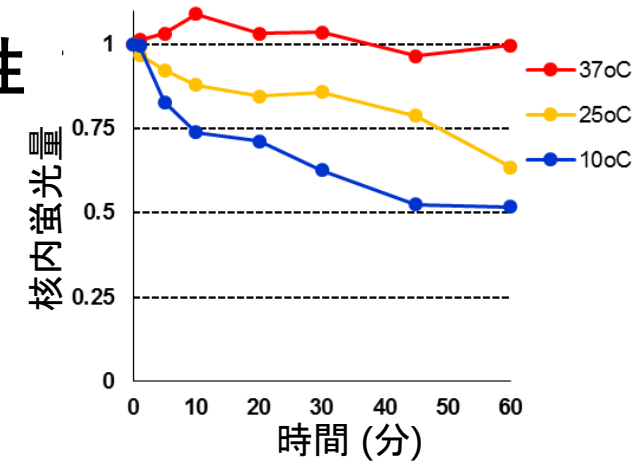
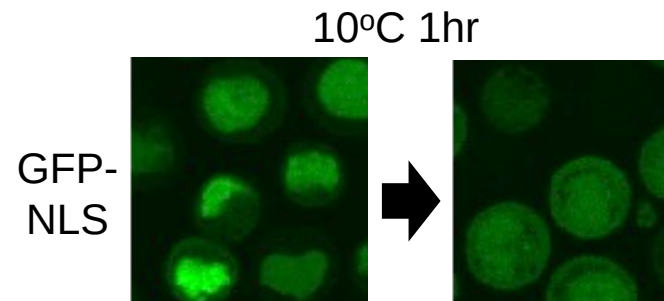
従来の市販キットでは、分画過程での核からの漏出により、可溶性核タンパク質の正確な取得が難しい

精密な核・細胞質分画を実現するための技術的課題

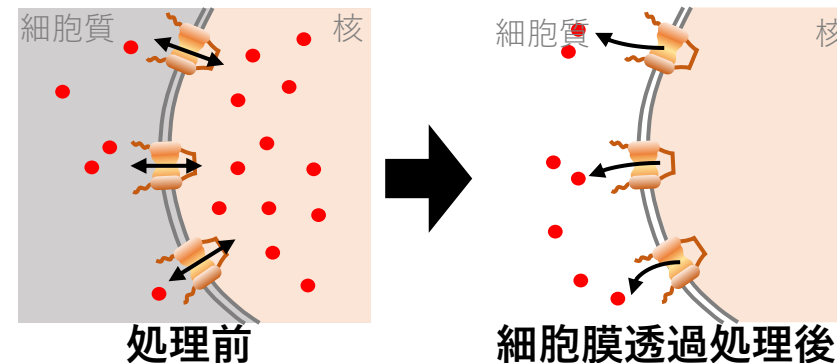
1. 核膜の完全性を維持した細胞膜透過処理



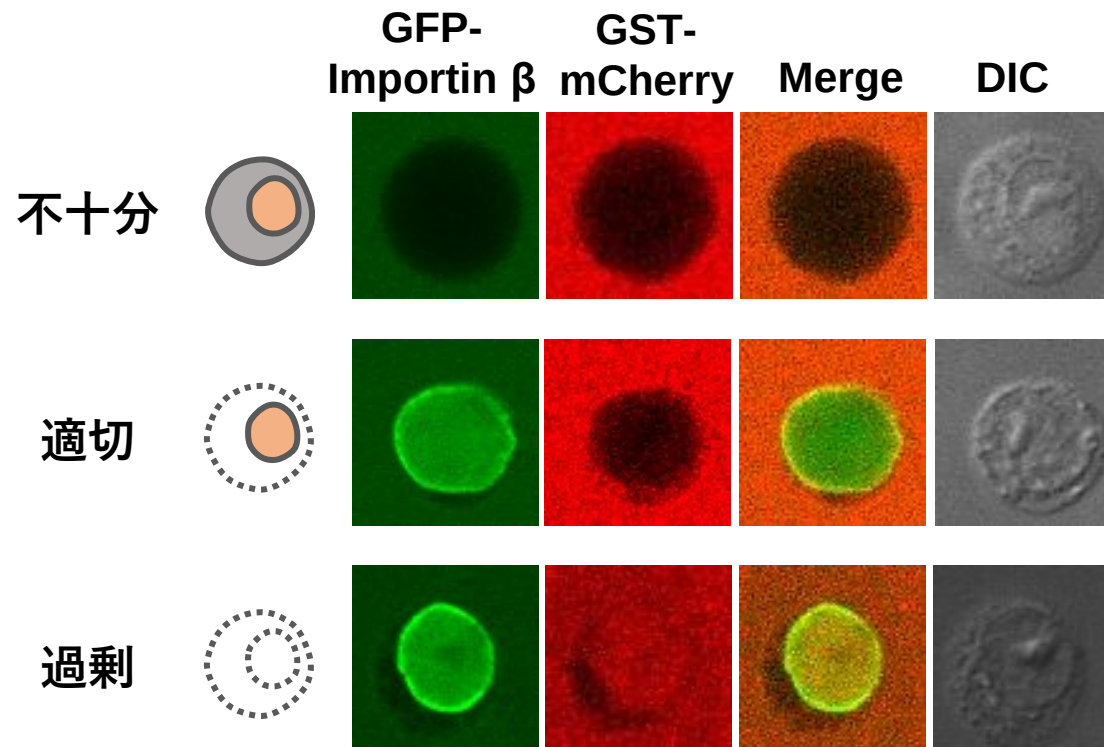
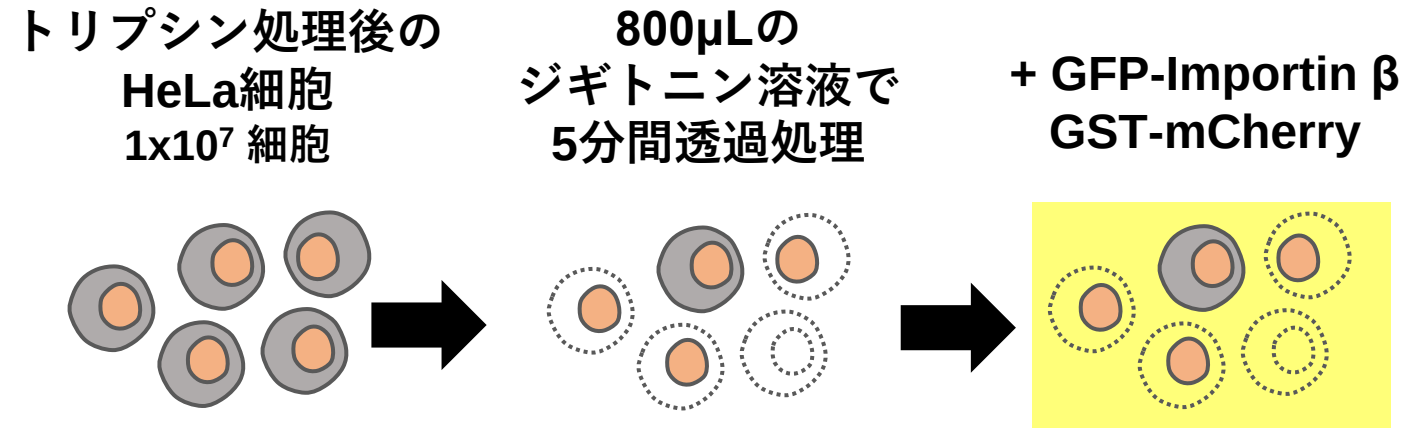
2. 核-細胞質間の能動輸送の温度依存性



3. 低分子量タンパク質の核膜孔複合体からの漏出



細胞膜の選択的透過処理

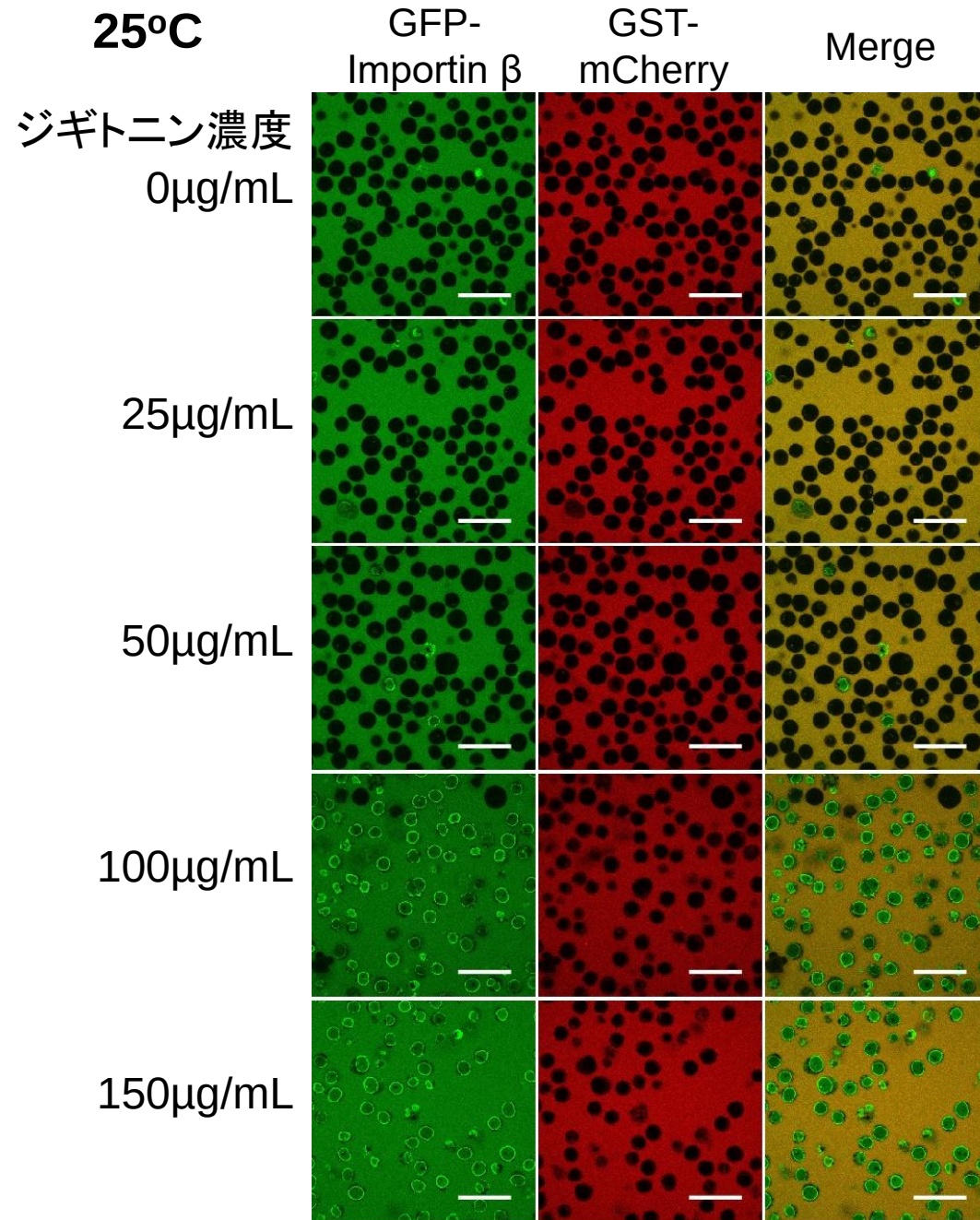


GFP-Importin βとGST-mCherry
の2つのマーカーを使い、最適
な処理条件を決定

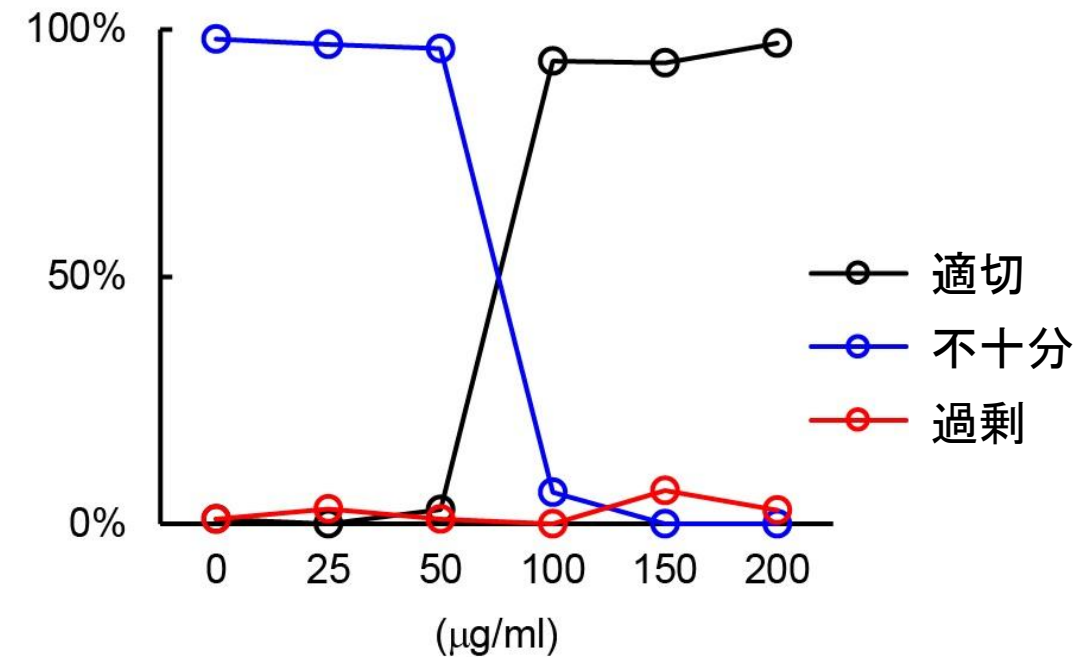


様々な細胞に対し条件の最適化
が可能

細胞膜の透過処理 条件検討 (ジギトニン濃度)

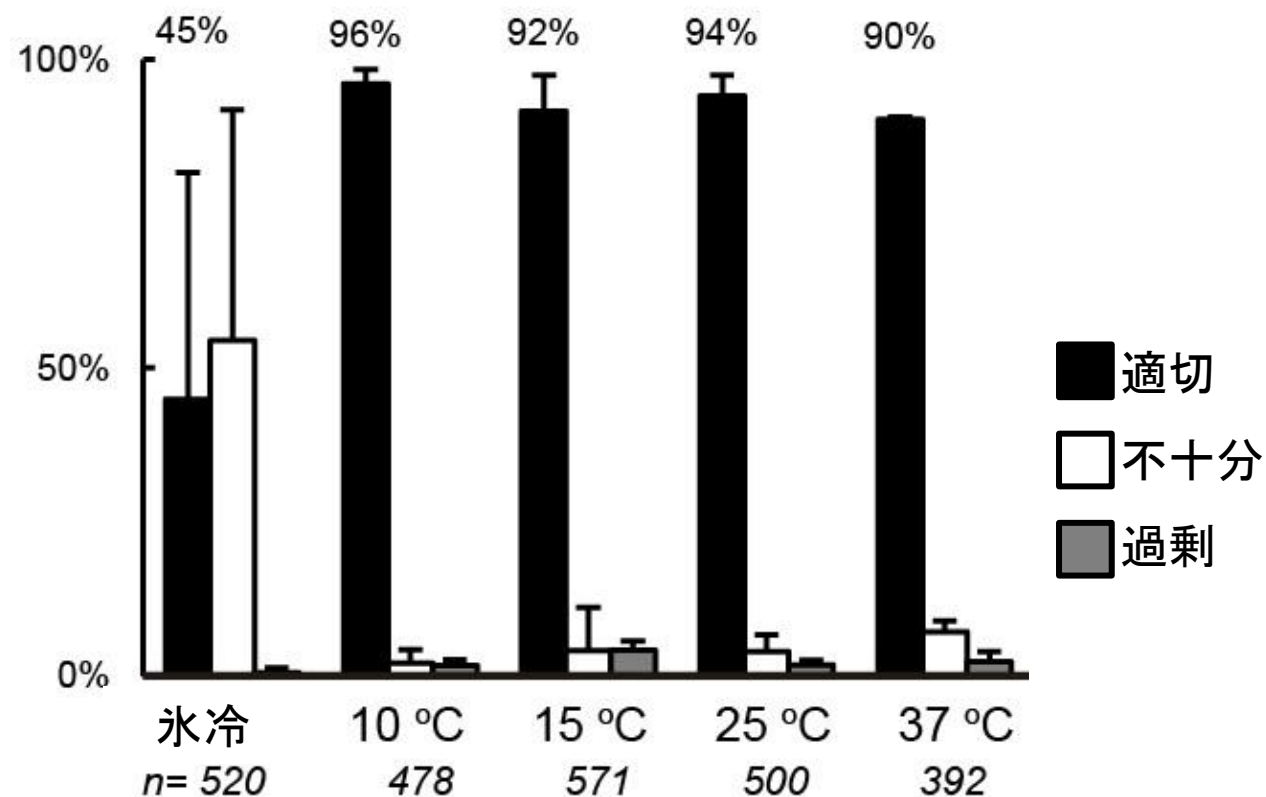
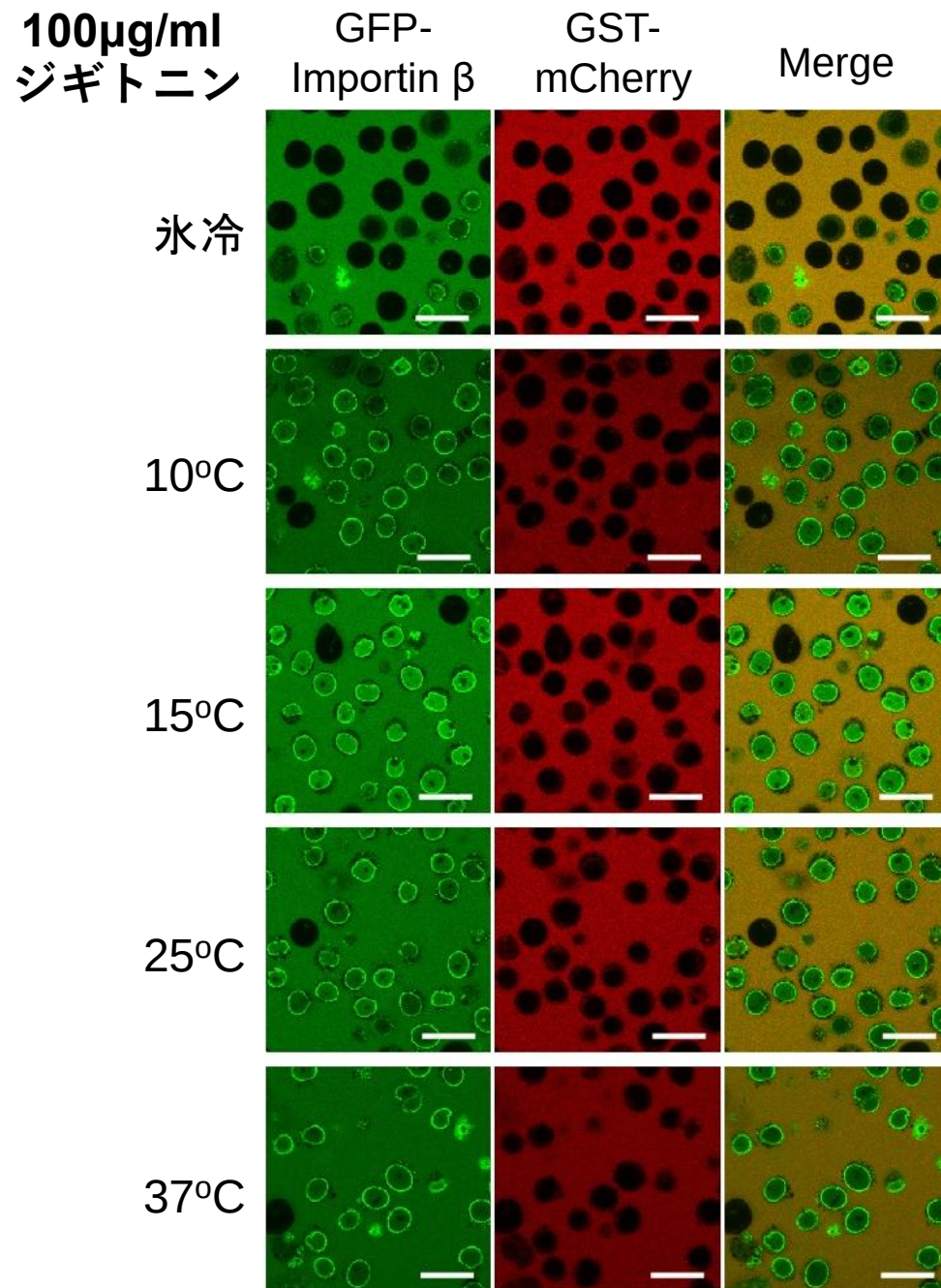


ジギトニン：細胞膜に豊富なコレステロールに特異的な界面活性剤



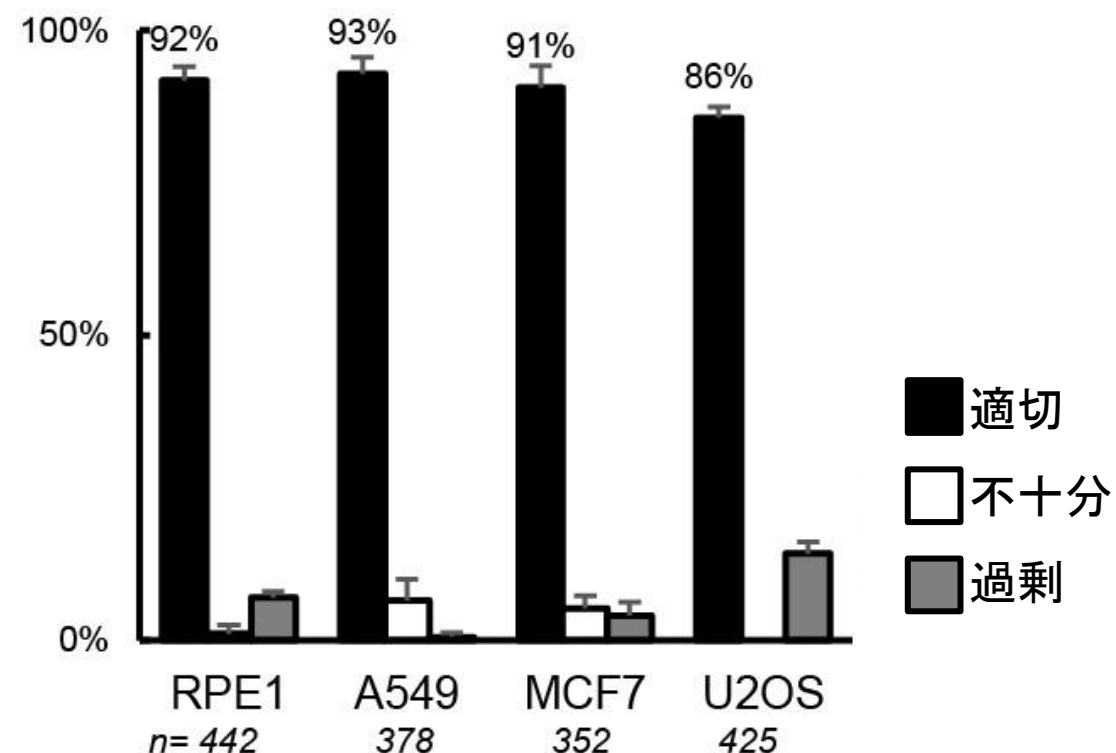
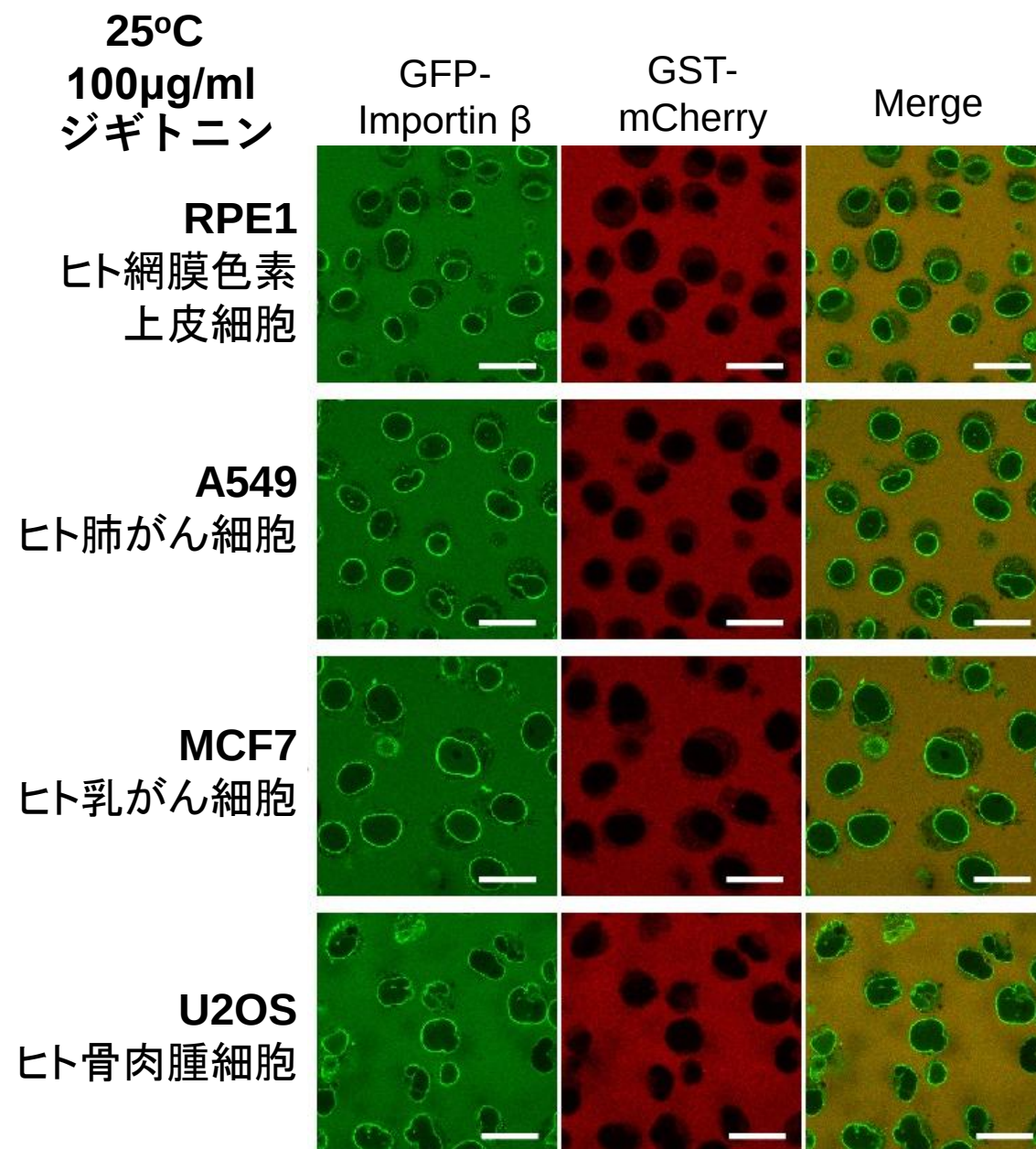
Ogawa and Imamoto *iScience*, (2021) 24:103503.

細胞膜の透過処理 条件検討 (温度)



10～37°Cの温度範囲で高効率に細胞膜の
選択的透過処理が可能

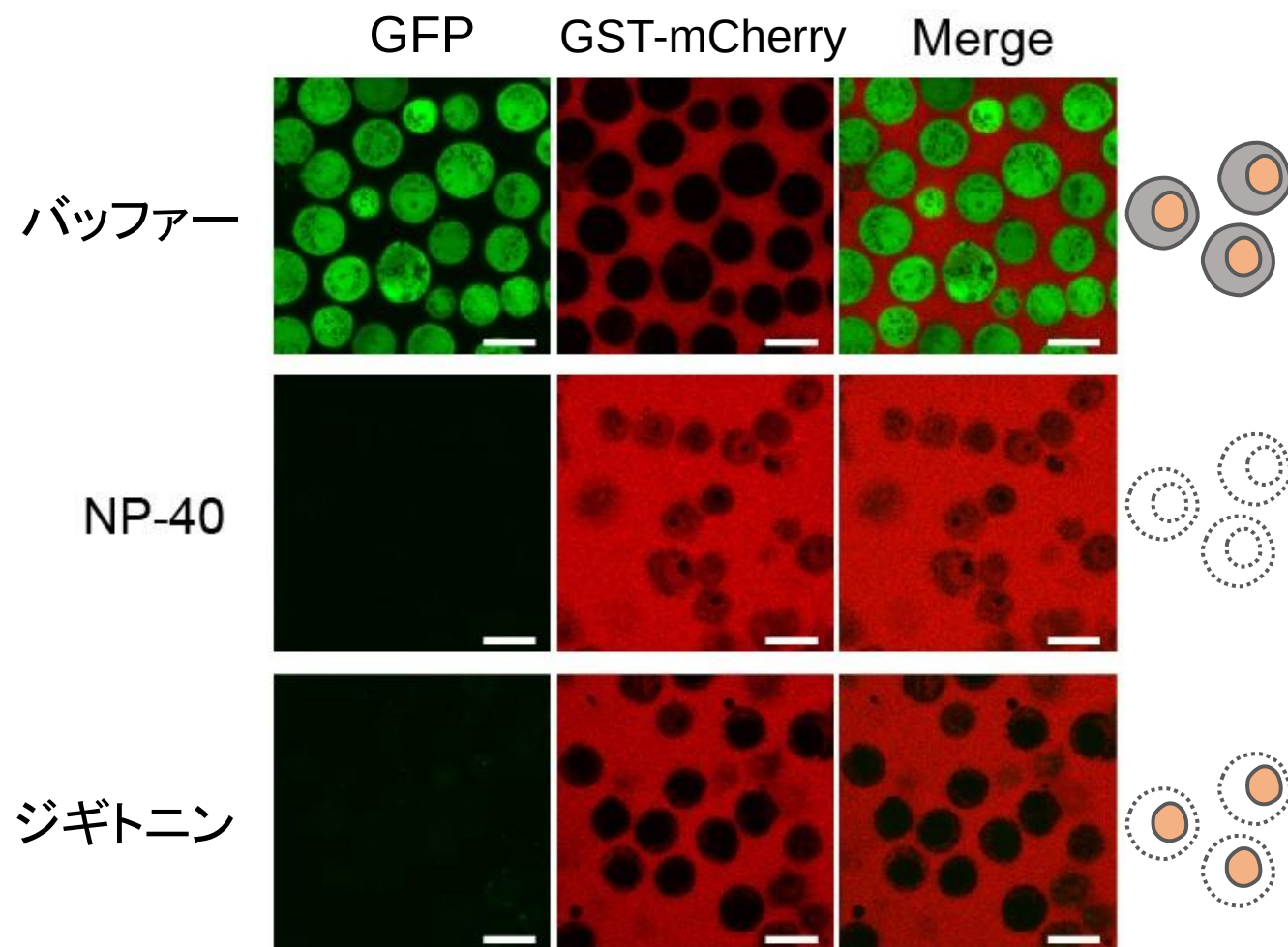
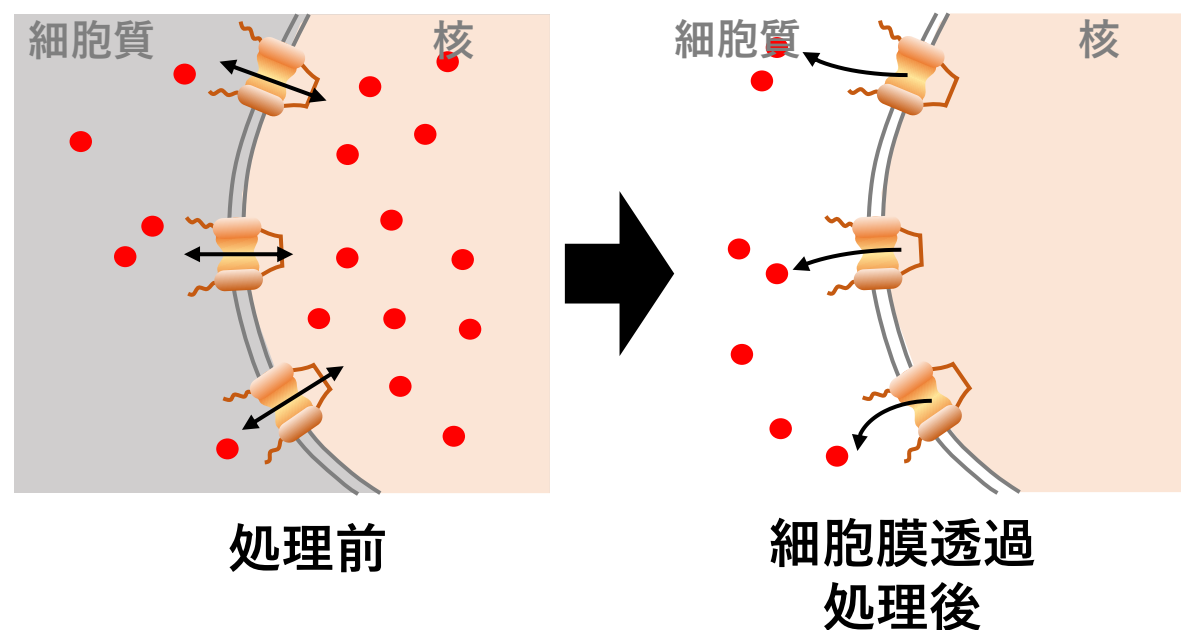
様々な細胞種での細胞膜の選択的透過処理



いくつかの培養細胞に対して、同じ条件で
処理が可能

核膜孔複合体からの低分子量タンパク質の漏出

分画過程での 核膜孔複合体からの漏出

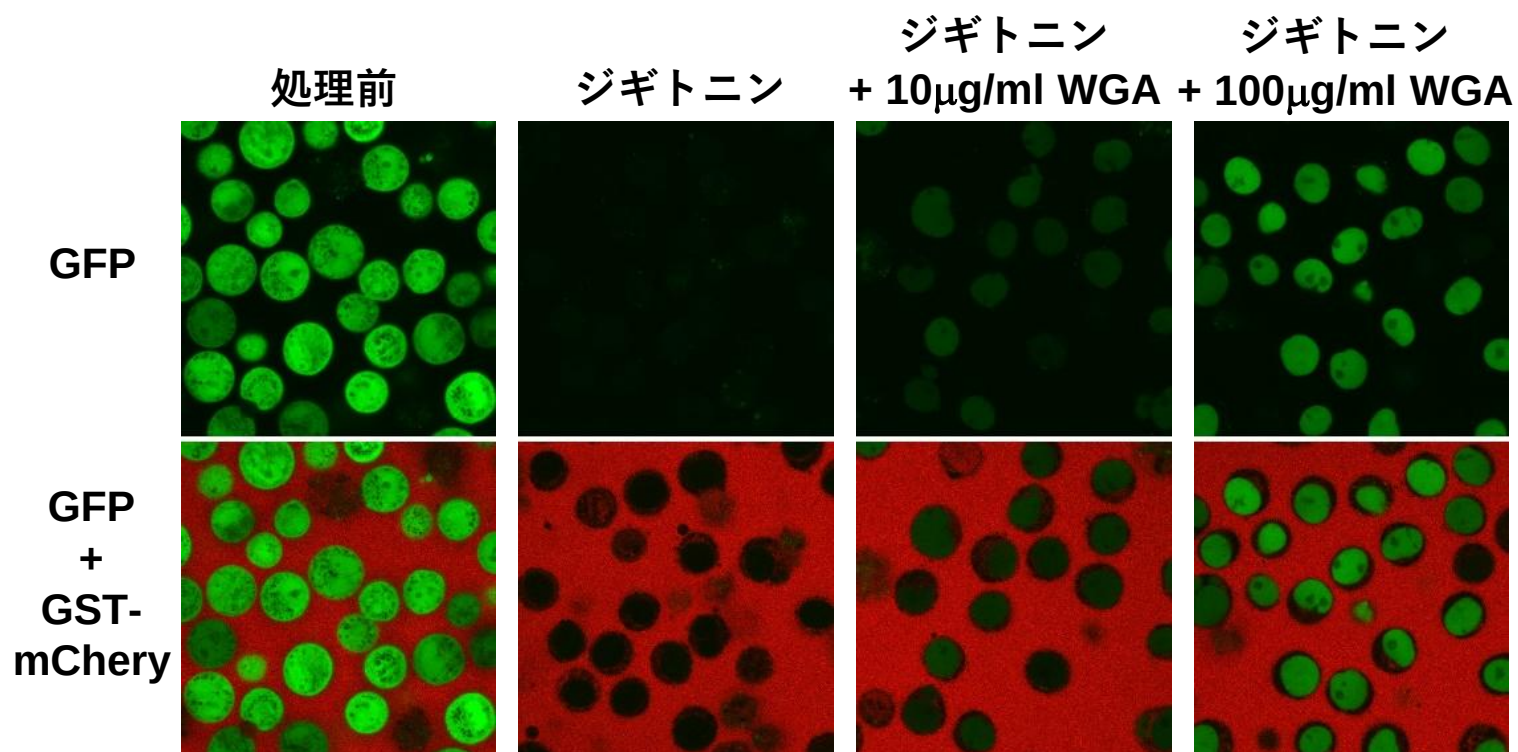


Ogawa and Imamoto *iScience*, (2021) 24:103503.

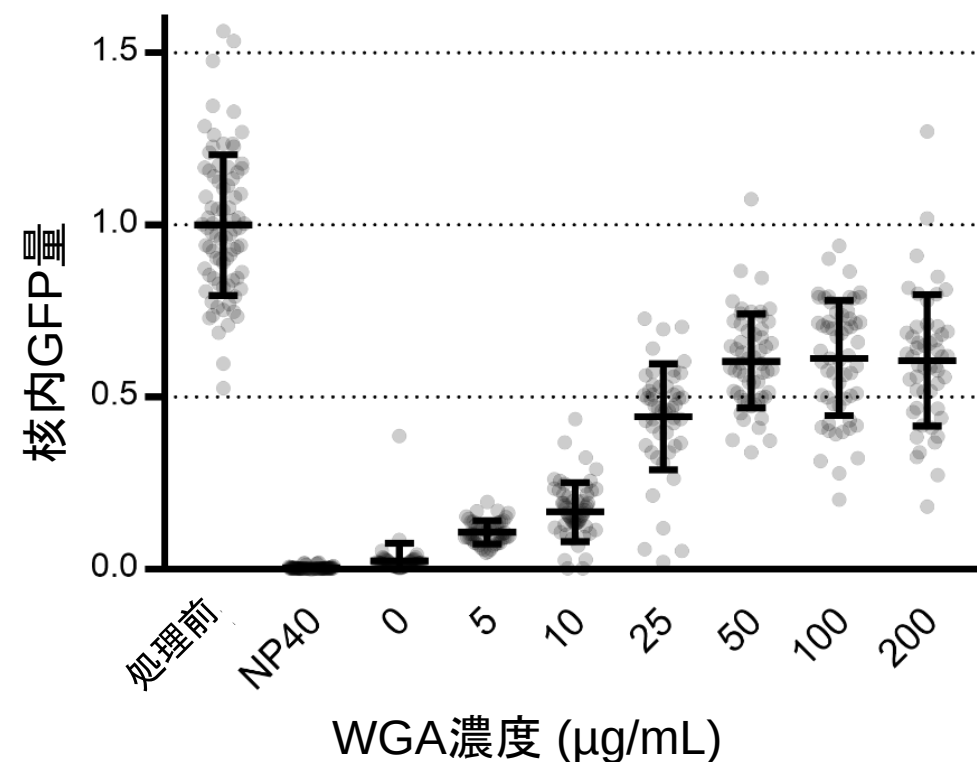
WGA による核内GFPの漏出抑制 (1)

小麦胚芽凝集素 Wheat germ agglutinin (WGA)

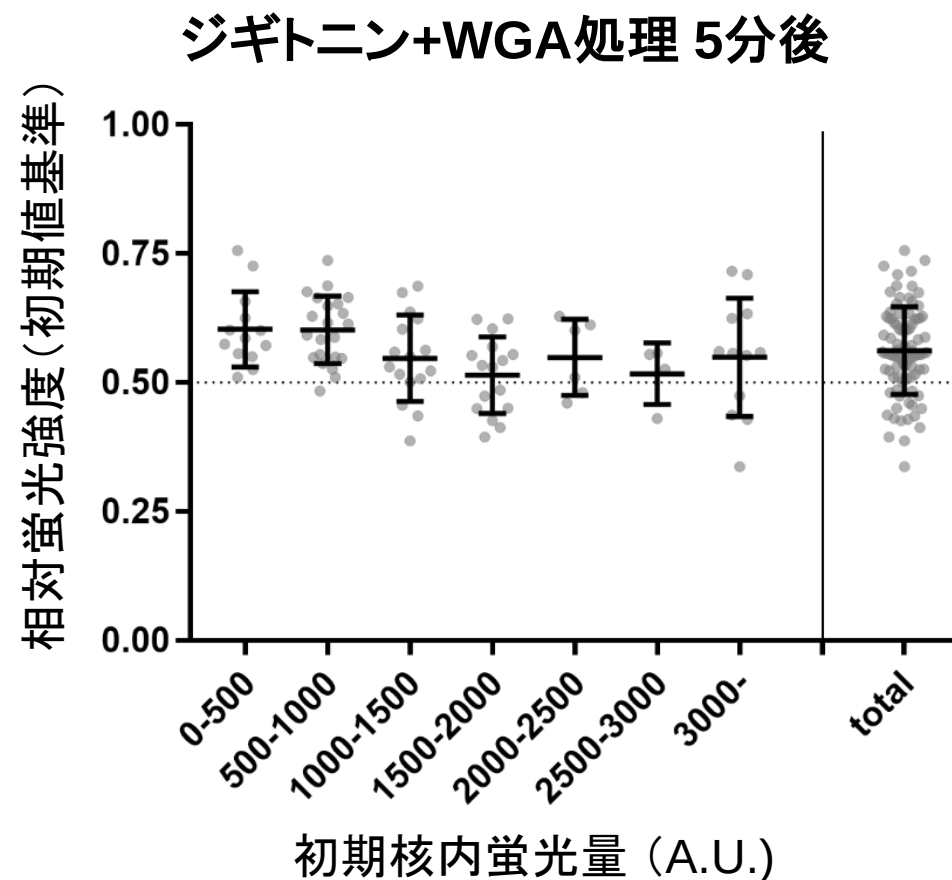
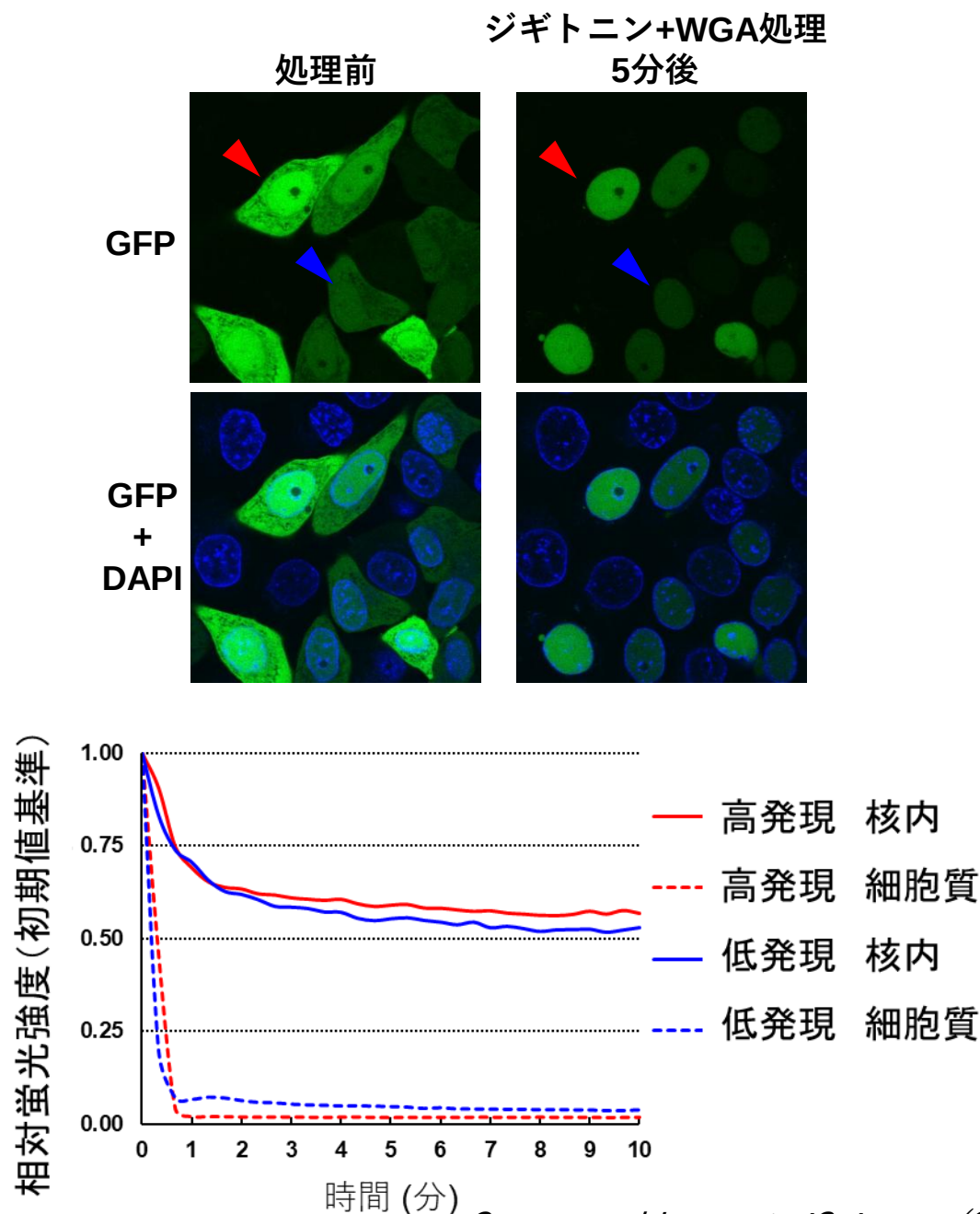
核膜孔複合体の糖タンパクと結合し輸送を阻害



Ogawa and Imamoto *iScience*, (2021) 24:103503.



WGA による核内GFPの漏出抑制 (2)

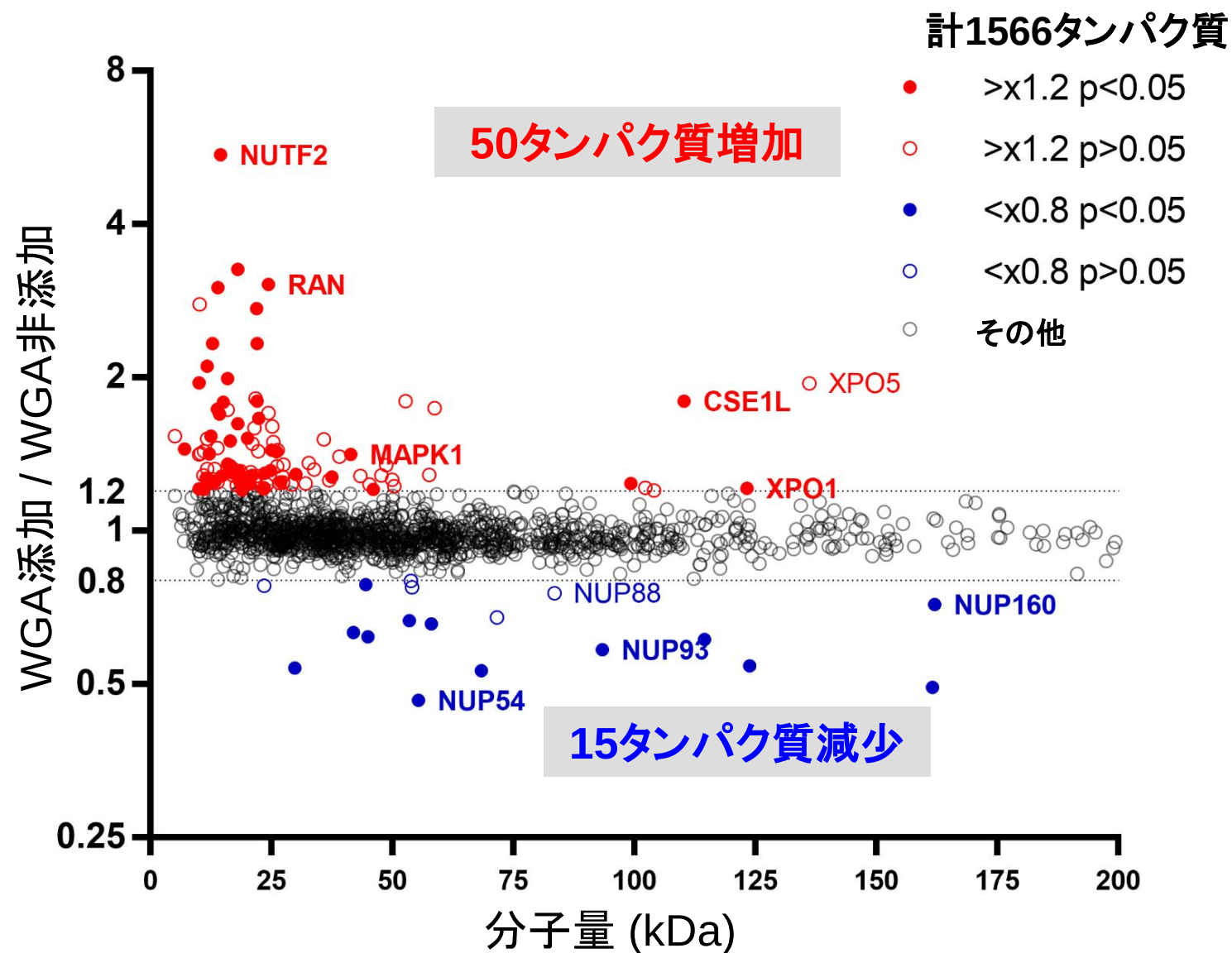


Ogawa and Imamoto iScience, (2021) 24:103503.

核内存在量を反映して核内に保持される

Ogawa and Imamoto iScience, (2021) 24:103503.

WGA添加による核内低分子量タンパク質の漏出抑制



Ogawa and Imamoto *iScience*, (2021) 24:103503.

本技術の特徴・従来技術との比較

対象 手法	安定 核タンパク質	可溶性 核タンパク質	低分子量 核タンパク質	
市販分画キット	核画分と 不溶画分	細胞質画分	細胞質画分	可溶性核タンパクには 不向き
ジギトニン	不溶性画分	核画分	細胞質画分	安定な核タンパクは さらに抽出が必要
ジギトニン+WGA	不溶性画分	核画分	核画分	糖タンパクには不向き

適切なマーカーを利用し、WGAの添加を含め、柔軟にプロトコルを調節し様々なサンプルに対応可能

想定される用途

- 核細胞質分画キットの開発
- タンパク質とRNAの局在や発現量全体を分析する空間オミックス解析
- 新規薬剤開発のためのマルチプレックススクリーニング

実用化に向けた課題

- RNAの局在の確認
- 不溶性画分からの不動態核タンパク質の溶出方法
(例: ヒストンなど)
- 組織レベルや不均質な細胞集団への応用

企業への貢献、PRポイント

- ・ 本技術は従来よりも簡便に正確な核画分の取得が可能なため、局在変化をターゲットとする創薬において企業に貢献できると考えている。
- ・ 本技術の導入にあたり、適切なマーカーを利用することにより、サンプルに応じて最適な分画条件を設定できる。
- ・ 本格導入にあたっての技術指導は可能です。

企業への期待

- ・ 対応できる細胞種やサンプルについては、共同研究で克服できると考えている。
- ・ 試薬のキット化等のノウハウを持つ企業との共同研究も希望。
- ・ 創薬などの分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 核可溶性タンパク質の新規分画方法
出願番号 : 特願2022-566962
- 出願人 : 国立研究開発法人理化学研究所
- 発明者 : 小川 泰

論文情報 : *Ogawa Y*, Imamoto N* Methods to separate nuclear soluble fractions reflecting localizations in living cells. iScience. (2021) 24:103503. DOI: 10.1016/j.isci.2021.103503*

お問い合わせ先

株式会社理研イノベーション

新技術説明会事務局

Email: license-contact@innovation-riken.jp