

30P1-pm146

Adenovirus Vector Carrierとしての細胞膜透過性ペプチド

○喜田 進也¹, 前田 光子¹, 北條 恵子¹, 衛藤 佑介², 森重 智弘², 渡辺 光²,
Ratima Asavatanabodee², 吉岡 靖雄^{2,3}, 水口 裕之^{2,4}, 真弓 忠範¹, 中川 晋作²,
川崎 紘一¹(¹神戸学院大薬, ²阪大院薬, ³阪大MEIセ, ⁴基盤研)

【目的】アデノウイルスはベクターとして優れた性質を有し、遺伝子治療への応用が期待されている。一方、HIV-1 Tat(48-60)部位のペプチド(GRKKRRQRRRPPQ)は細胞膜の透過を促進する。アデノウイルスベクター(Ad)を効率よく細胞内へ導入するため Tat ペプチドを Ad に導入し、その遺伝子導入活性を測定した。また、Tat ペプチドを Ad に導入する際、ポリマー化が問題となるため Lys 側鎖塩保護についても検討した。

【方法】マニュアル固相合成機を用いて Fmoc 固相合成法によりペプチド合成を行った。アミノ酸縮合には HOBt/DIC 法を用い、Fmoc 基除去には 20% Piperidine、最終脱保護は TFA:H₂O:Triisopropylsilane(95:2.5:2.5)の条件により粗ペプチドを得た。精製は RP-HPLC、同定は MALDI TOF-MS 及びアミノ酸分析を用いた。同ペプチドを二機能性架橋剤 EMCS と反応させルシフェラーゼ遺伝子を組み込んだ Ad にペプチドを付与し、マウスメラノーマ細胞 (B16BL6) に感染させてルシフェラーゼの発光強度による遺伝子発現率を測定した。

【結果】同定の結果、高純度な目的ペプチドを合成することができ、Lys 塩保護では有意に保護されることが確認できた。B16BL6 細胞に対して Tat 修飾 Ad は Wild type Ad よりも高い遺伝子発現率が観察され、Tat ペプチドは Ad 細胞内送達のツールとして期待が持たれることが示された。