

28L-pm02

ジスルフィド架橋ステアロイルオリゴアルギニンの設計と遺伝子ベクターとしての有用性

○小河 崇也¹, 金沢 貴憲¹, 壽田 有美子¹, 高島 由季¹, 福田 常彦², 岡田 弘晃¹(¹東京薬大薬,²長浜バイオ大バイオサイエンス学部)

【目的】我々はこれまでに、オリゴアルギニンペプチドの両末端にシステインを付加した CR₂C などのベクターと pDNA の複合体を、一定条件でジスルフィド結合により架橋させることで細胞外で安定で、細胞質内還元条件下で遺伝子を効率的に放出できることを報告してきた。本研究では、エンドソームからの脱出などの、ベクターへの更なる機能付与を目的として検討を行った。

【方法】エンドソーム脱出能向上を目的にヒスチジンを付加したペプチド CH₂R₄H₂C、さらに脂質を付加した脂質化 CH₂R₄H₂C を合成し、ルシフェラーゼをコードした pDNA との複合体の粒子径、ゼータ電位、pDNA 凝縮度、残存 SH 基の経時的な定量および還元環境下におけるデコンデンス能などの物性評価を行った。さらに複合体を COS7 細胞にトランスフェクションし、細胞内取り込み効率、クロロキンの併用によるエンドソーム脱出能の評価、遺伝子発現効率などベクターとしての有用性を検討した。

【結果・考察】アルギニン、ヒスチジン数の増加、脂質の導入に伴い複合体は正の電荷が増大し、取り込み効率も向上する傾向が見られた。また、脂質化 CH₂R₄H₂C は還元環境下でのジスルフィド結合切断により効率的に pDNA を放出できることが判明した。クロロキン存在下でのトランスフェクションの結果、ヒスチジン数の増加や脂質の導入に伴いクロロキンの影響を受けにくくなっていたことから、エンドソーム脱出能が向上している可能性が示された。さらに、脂質化 CH₂R₄H₂C は著しく高い遺伝子発現効率を示し、多機能性で有用な遺伝子ベクターとなり得ることが示唆された。