

静電的相互作用を利用した多機能三元複合体ベクターの遺伝子発現効果
○仁頃 一也¹, 金沢 貴憲¹, 曾我部 佳奈¹, 西野 友規子¹, 高島 由季¹,
岡田 弘晃¹(¹東京薬大薬)

【目的】本研究では、細胞膜透過性、エンドソーム脱出能、核移行性を併せ持つ多機能三元複合体ベクターの構築を目的とし、核移行シグナルペプチド (NLS) と本研究室で設計したステアリル化ペプチドベクター STR-CH₂R₄H₂C をポリアニオン (PA) を用いて静電的に縮合させた STR-CH₂R₄H₂C/PA/CSV40C/pDNA を調製した。COS7 細胞およびマウス骨髄単球由来樹状細胞 (JAWS II 細胞) を用いてこの複合体の遺伝子発現性を評価した。

【方法】NLS として SV40 T 抗原由来ペプチド PKKKRKV (SV40) の両末端に Cys を導入した CSV40C を用いた。PA にはトリポリリン酸 (TPP)、 α -ポリグルタミン酸 (α -PGA)、 γ -ポリグルタミン酸 (γ -PGA) を用い、これと CSV40C および STR-CH₂R₄H₂C を混合することで複合体を調製した。次に、COS7 細胞に各ベクターを 4 時間トランスフェクションした際のルシフェラーゼ発現 pDNA (pLuc) 取り込み効率、ルシフェラーゼ活性、また、JAWS II 細胞に 4 時間トランスフェクションした際の GFP 発現効率を測定した。

【結果・考察】調製した三元複合体ベクターの粒子径は PA の分子量が大きいくほど小さくなった。いずれのベクターも COS7 細胞において pLuc の高い取り込み効率、遺伝子発現を示した。さらに、TPP を用いた三元複合体は JAWS II 細胞においても CSV40C/pDNA、STR-CH₂R₄H₂C/pDNA 複合体に比べ、有意に高い遺伝子発現を示した。以上より、CSV40C と STR-CH₂R₄H₂C ペプチドを PA を用いて静電的に縮合させる事で、多機能な遺伝子ベクターとなりうる事が示唆された。