

29W-am08

リポフェクション効率向上効果を有するプロドラッグ化ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤

○置田 裕子¹, 中野 宏樹¹, 吉田 耕平¹, 吉野 宏美¹, 上里 新一¹, 服部 喜之², 米谷 芳枝², 長岡 康夫¹(¹関西大化学生命工, ²星薬大)

【目的】リポフェクション法は動物細胞への遺伝子導入法として様々な分野で汎用されており、その遺伝子発現効率のさらなる向上が求められている。そこで、本研究では、転写や細胞内輸送の活性化作用を有するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤(HDACI)の脂溶性プロドラッグを市販のリポフェクション試薬と併用させた時の、遺伝子発現増強効果について検証した。

【方法】HDACI としては、皮膚 T 細胞リンパ腫治療薬として承認されている SAHA (vorinostat)をベースとした。正電荷脂質との親和性を高めるための脂肪酸修飾を施したプロドラッグ化 SAHA を合成し、これを利用した。種々の市販の導入試薬(正電荷脂質)とプロドラッグ化 SAHA を混合した後、DNA との複合体を形成させた。この複合体を数種の細胞 (CHO-K1, HCT116, Sk-Br-3)に作用させ、導入遺伝子にコードされているルシフェラーゼや GFP の発現量により、プロドラッグ化 SAHA の効果を検証した。

【結果・考察】ルシフェラーゼを指標にした分析の結果、プロドラッグ化 SAHA を併用させることで、従来法よりも、最大で約 7 倍に発現量が増強されることがわかった。また、GFP の発現量をフローサイトメーターで測定した結果、発現細胞数と 1 細胞あたりの発現量が共に増加していることがわかった。さらに、Western blot 分析の結果、プロドラッグ化 SAHA を細胞に作用させた場合、tubulin と histone H3 のアセチル化が亢進していたことから、この遺伝子発現増強作用は、細胞内に導入された DNA の核内での転写と細胞内輸送の促進に起因していると考えられる。