

28U-am04

pDNA モノイオンコンプレックスによる *in vivo* 局所遺伝子導入

○朝山 章一郎¹, 野原 敦¹, 根岸 洋一², 川上 浩良¹ (¹首都大院分子応化, ²東京薬大薬)

【緒言】我々は、ブチルイミダゾリウム末端修飾PEG(Bu-Im-PEG)が、plasmid DNA(pDNA)とモノイオンコンプレックス(MIC)を形成し、マウス皮内局所投与において、有意に高い遺伝子発現効率を導くことを報告してきた[1]。本研究では、*in vivo* 遺伝子発現効率の更なる向上のため、MICの形成能と安定性の向上を目指し、アルキル鎖末端に第一級アミドを導入した ω -アミド-ペンチルイミダゾリウム末端修飾PEG (APe-Im-PEG) を分子設計し、MICを発展させたので報告する。

【実験】APe-Im-PEG と pDNA との MIC の形成能は、アガロースゲル電気泳動、DLS による粒径測定などにより評価した。*in vivo* 遺伝子導入実験は、マウス脛骨筋へ MIC を局所投与し、ルシフェラーゼレポーター (pGL3 プラスミド) アッセイにより行った。

【結果・考察】APe-Im-PEG を電荷比(+/-)4 で pDNA と混合すると、pDNA バンドが naked pDNA より速く泳動した。この興味深い現象は、Bu-Im-PEG では観察されなかったため、第一級アミドの導入による MIC 形成能の向上が示唆された。APe-Im-PEG/pDNA MIC は、各電荷比において約 50 nm 前後の粒径を示した。同様の条件で約 30 nm の粒径を有する Bu-Im-PEG/pDNA MIC と比較して、粒径が増大した理由は、pDNA に結合している PEG 数の増加による影響だと考えられる。APe-Im-PEG/pGL3 MIC は、低電荷比(+/-)0.8 にもかかわらず、naked pDNA、および、市販の *in vivo* トランスフェクション試薬である jet PEI (+/-=1) と比較し、有意に高い遺伝子発現効率を示した。これらの結果は、APe-Im-PEG/pGL3 の微小粒径による目的組織への拡散性の向上効果を示唆している。

[1] S. Asayama, A. Nohara, Y. Negishi, and H. Kawakami, *Biomacromolecules*, 15, 997-1001.