

# Del1由来のペプチドによるDNAプラスミド導入率の亢進

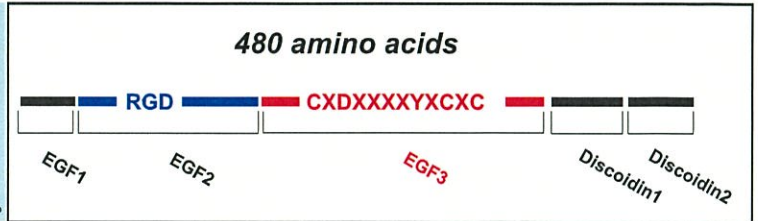
医学部 耳鼻咽喉・頭頸部外科学系歯科口腔外科学分野 診療教授 北野尚孝

## 諸言

Developmental endothelial locus-1 (Del1) は主に発生の過程で発現する細胞外基質タンパクである。これまでに我々は、Del1の3番目のEGFに存在するEGFモチーフが遺伝子導入試薬と併用することで種々の細胞の遺伝子導入効率を上昇させること報告した。本研究では、Del1のEGFモチーフが遺伝子導入試薬を併用せずに遺伝子導入効率を上昇させるかを検討した。

### Figure 1, Del1の構造

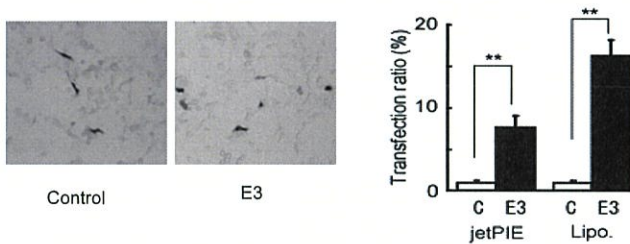
Del1はN末端側の3つのEGFモチーフ (E1, E2, E3) とC末端側の二つのdiscoidinドメイン (C1, C2) から構成される480のアミノ酸をコードする細胞外基質タンパクである。2番目のEGF (E2) は、 $\alpha$ v- $\beta$ 3インテグリン受容体のリガンドであるRGDインテグリン結合モチーフを含む。3番目のEGF (E3) に存在するEGFモチーフ (CXDXXXXYXCXC) はエンドサイトーシス亢進作用を有する。また、一番目のディスコイディンドメイン (C1) は細胞外基質沈着作用を有し、高濃度に組織に蓄積する性質がある。



## 結果

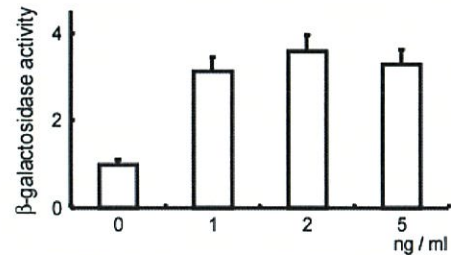
### Figure 2, E3と遺伝子導入試薬の併用

E3存在下で遺伝子導入試薬を使用すると、遺伝子導入された細胞の数が増加した。



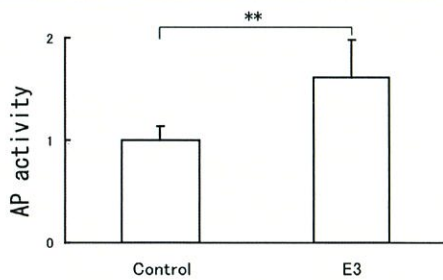
### Figure 3, E3と遺伝子導入試薬の併用時のE3の濃度依存性

E3存在下で遺伝子導入試薬を使用すると、E3は濃度依存的に遺伝子導入率を増加させた。0.1ng/mlのE3で十分に遺伝子導入効率が増加した。



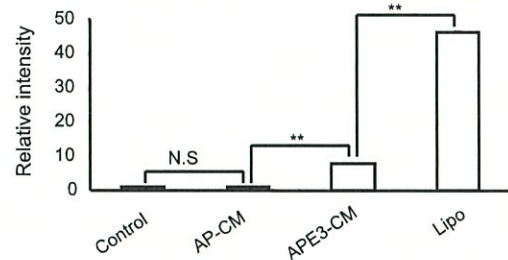
### Figure 4, in vivoでのE3と遺伝子導入試薬の併用

熱安定性のあるアルカリホスファターゼcDNAをトランスフェクション試薬とともにマウスの静脈内に注射し24時間後に血清中のAP活性を測定した結果、E3は生体内での遺伝子導入効率を高めた。



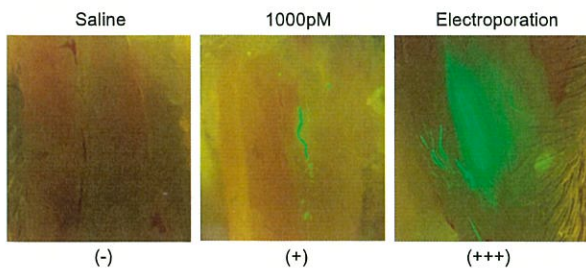
### Figure 5, E3の遺伝子導入作用

E3とDNAプラスミドを培養細胞の培養液中に添加して48時間後にbetaガラクトシダーゼassayで検討した結果、betaガラクトシダーゼ活性の増加を認めた。



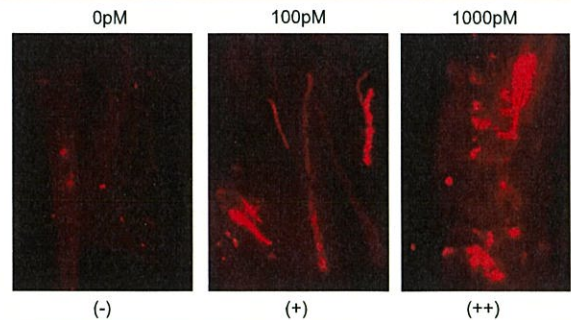
### Figure 6, in vivoでのE3の遺伝子導入作用

E3とGFP遺伝子を組み込んだDNAプラスミドをマウスの足底に注射投与して48時間後に実態顕微鏡で観察した結果、GFPタンパクの発現を認めた。



### Figure 7, in vivoでのE3の遺伝子導入作用の濃度依存性

E3とRFP遺伝子を組み込んだDNAプラスミドをマウスの足底に注射投与して観察した結果、E3の濃度依存的にRFPタンパクの発現上昇を認めた。



## 結論

Del1のEGFモチーフ (CXDXXXXYXCXC) は遺伝子導入試薬を併用せずにDNAプラスミドの導入効率を上昇させることが明らかとなった。今後様々な分野において新たな遺伝子導入試薬として利用できる可能性があると考えられた。