

28N-am02

siRNA細胞内送達のための微粒子キャリアーの研究

○平 安幸¹, 戸塚 裕一¹, 竹内 洋文¹, 豊福 秀一², 小富 正昭² (¹岐阜薬大, ²大塚製薬株式会社)

【目的】RNA 干渉は短い二本鎖 RNA である siRNA が配列特異的に標的遺伝子の mRNA を切断することで遺伝子発現を抑制する。この目的のためには、siRNA を細胞内へ効率よく送達する必要がある、現在までにカチオン性リポソームなどの微粒子キャリアーの利用が広く研究されている。当研究室ではこれまで、リポソームの脂質組成の変化、表面修飾により標的細胞への取り込みを制御できることを報告してきた。本研究では、siRNA を標的細胞に効率的に送達する微粒子キャリアーを開発することを目的とし、肺癌上皮細胞である A549 細胞を用いて、種々のリポソームの細胞取り込み、細胞毒性などを検討した。

【方法】リン脂質、コレステロール及びカチオン性物質を用いて薄膜水和法によりカチオン性リポソームを調製した。それを siRNA 溶液と等量混合することによりコンプレックスを調製した。プレートに播種した A549 細胞にコンプレックスを投与し、一定時間インキュベート後、MTS 試験、フローサイトメトリー及び RT-PCR を用いて、細胞生存率、細胞内取り込み及びインターフェロン誘導を評価した。

【結果及び考察】コンプレックスと A549 細胞を 24 時間インキュベート後、コンプレックスのカチオン性が高い程細胞生存率が低下することが認められた。用いたリポソームのリン脂質の種類により細胞内取り込み量は変化することが示唆された。リポソームの脂質濃度を上昇させると細胞内取り込み量が増加することが認められ、経時的に変化しその取り込み速度にも差があることが示唆された。ポジティブコントロールとして用いた dsRNA よりも今回調製したコンプレックスは低いインターフェロン誘導を示した。