

# 26P-pm218

表面修飾 PLGA ナノスフェアを用いた持続型 siRNA キャリアの設計と評価

○田原 耕平<sup>1</sup>, 山本 浩充<sup>1</sup>, 加藤 能豊<sup>1</sup>, 佐村 聡太<sup>1</sup>, 古川 紗帆里<sup>1</sup>, 横井 宏哉<sup>1</sup>, 川島 嘉明<sup>1</sup>(<sup>1</sup>愛知学院大薬)

**【目的】** 当研究室ではこれまでに、エマルション溶媒拡散法を応用し、ポリ乳酸・グリコール酸 (PLGA) を基剤としたサブミクロンサイズのナノスフェア (NS) 中に、siRNA を高収率で封入することに成功している。さらに、その粒子表面を機能性物質で修飾することにより、細胞との相互作用が増大し、RNA 干渉能が持続することを明らかにしてきた。今回、siRNA を NS 内に封入するだけでなく、粒子表面に siRNA を吸着させることにより、速効性と持続性を併せ持つ siRNA キャリアを設計することを目的とした。

**【方法】** siRNA 封入 PLGA NS はエマルション溶媒拡散法により調製した。表面修飾物質として、ポリ-L-リジン (PLL) を用いた。siRNA はルシフェラーゼ遺伝子を抑制するものを用いた。PLGA NS の粒子径、 $\zeta$  電位、封入率を求め、NS からの siRNA 放出試験を行った。RNase からの保護作用を電気泳動法により確認した。培養細胞は、ホタル及びウミシイタケの 2 種類のルシフェラーゼを安定に発現する細胞株マウス黒色細胞腫 B16/dual Luc を用いた。遺伝子発現抑制効果は、B16/dual Luc のルシフェラーゼ活性を測定することにより定量的に評価した。

**【結果・考察】** カチオン性の PLL で表面修飾した NS の  $\zeta$  電位は正の値へシフトし、siRNA を表面に吸着させることができた。siRNA 封入 NS は、1 週間以上 siRNA を放出し、RNase から siRNA を保護することが分かった。siRNA を粒子内部に封入し、さらに粒子表面に吸着させた NS のルシフェラーゼ遺伝子発現抑制効果は、Lipofectamine<sup>TM</sup>2000 と比較し、より増大し、さらにその効果は長期間持続することが明らかとなった。これは、細胞内に siRNA を保持した NS が大量に取り込まれ、細胞内にて NS からの siRNA の放出が徐放化されたためと考えられた。