

26P-pm224

イメージングシステムを用いたポリエチレンイミン-遺伝子複合体の結合性および遺伝子発現作用の評価

○奥田 知将¹, 岡本 浩一¹(¹名城大薬)

【目的】優れた遺伝子医薬品を開発する上で、遺伝子とベクターとの結合性ならびに遺伝子発現作用の双方を評価し、最適条件を見出すことは必須である。本研究は多検体についてこれら双方をより簡便に評価可能なスクリーニング系の構築を目的とし、視覚的評価を可能とするイメージングシステムを導入し、カチオン性高分子であるポリエチレンイミン(PEI)とプラスミド DNA(pDNA)および siRNA との複合体(complex)についてそれぞれ PEI の分子量と構造および N/P 比の最適化を試みることで、このシステムの有用性を検討した。【方法】イメージングシステムには Real-time *in vivo* imaging system(IVIS[®])を用いた。pDNA はルシフェラーゼをコードする pCMV-Luc、また siRNA はルシフェラーゼに特異的な GL3 siRNA を用いた。pDNA/PEI complex および siRNA/PEI complex の結合性は ethidium bromide exclusion assay による蛍光について IVIS[®]を用いて評価した。pDNA/PEI complex の遺伝子発現効果ならびに siRNA/PEI complex の遺伝子発現抑制効果はそれぞれ CT26 細胞および CT26/Luc 細胞における Luc assay による発光について IVIS[®]を用いて評価した。また細胞傷害性は MTT assay により評価した。【結果・考察】pDNA/PEI complex および siRNA/PEI complex とともに N/P 比の増加(1→20)とともに ethidium bromide exclusion assay による蛍光の減少が認められ、PEI と遺伝子との結合性が確認できた。また遺伝子発現についても視覚的に評価が可能で、pDNA については分子量 25,000 の直鎖型 PEI で N/P 比が 5、また siRNA については分子量 70,000 の分岐型 PEI で N/P 比が 2.5 の条件が最適であることが示された。また最適条件における細胞傷害性は軽微であることを確認した。これらの結果よりイメージングシステムはベクター開発の有用なスクリーニング系となることが示唆された。