

28L-pm10

効率的な核内遺伝子放出を可能とする多機能性エンベロープ型ナノ構造体の創製
○山田 勇磨¹, 野村 卓¹, 原島 秀吉¹, 山下 敦², 上遠野 亮², 由井 伸彦² (¹北大
大院薬, ²北陸先端大マテリアルサイエンス)

【目的】近年、遺伝子疾患の治療戦略として、非ウィルスベクターを用いた遺伝子送達研究が盛んに行われている。非ウィルスベクターは高い安全性が報告されているが、ウィルスベクターに比べて遺伝子発現活性が低いという問題点がある。我々は、この問題を解決するために、両ベクターにおける遺伝子発現の違いが細胞内素過程のどの段階にあるのかを定量的に評価した。その結果、遺伝子が核へ送達されるまでの過程ではなく、核へ送達した後の過程に大きな違いがある事を明らかとした (S. Hama et al. *Mol. Ther.* 2006)。本研究では、この結果に基づき、効率的な核内遺伝子放出を実現するベクターの創製を目標とした。非ウィルスベクターとしては、当研究室で開発された多機能性エンベロープ型ナノ構造体 (MEND) に着目した (K. Kogure et al. *J. Control. Release* 2004)。MEND は pDNA をポリカチオンによって凝縮化したナノ粒子を脂質膜でコートした構造を有しており、その表面にアルギニン 8 重合体を付与した R8-MEND は、効率的な核への遺伝子送達を可能とする。ポリカチオンとしては、優れた遺伝子放出能を有する、細胞内分解性ポリロタキサン (SS-PRX) を用いた (A. Yamashita et al. *Nat. Protoc.* 2006)。

【方法】ナノ粒子の遺伝子放出能はアガロースゲル電気泳動により評価した。遺伝子発現活性は、レポータータンパク質であるルシフェラーゼを発現する pDNA を内封した R8-MEND を調製し、NIH3T3 細胞を用いて評価した。

【結果・考察】遺伝子放出能を評価した結果、SS-PRX は遺伝子発現活性が高い事が報告されているポリカチオン (Protamine) よりも効率的に遺伝子を放出した。さらに、SS-PRX ナノ粒子内封 R8-MEND は従来の R8-MEND と比較してはるかに高い遺伝子発現活性を示した。本研究により、核移行後の遺伝子放出能の改善が非ウィルスベクターの遺伝子発現において重要である事が示唆された。