

多機能性エンベロープ型ナノ構造体の凍結乾燥法の確立と機能性評価

○佐伯 健^{1,3}, 濱 進^{1,3}, 中村 孝司^{2,3}, 原島 秀吉^{2,3}, 小暮 健太郎^{1,3} (1京都薬大,
2北大院薬, 3CREST JST)

【目的】多機能性エンベロープ型ナノ構造体 (MEND) は高い遺伝子送達能を有する人工遺伝子デリバリーシステムであり、実用化が期待されている。しかし実用化のためには MEND を製剤化する必要性があり、そのためには凍結乾燥法の確立が重要である。そこで本研究では MEND の凍結乾燥法の確立を試み、また得られた凍結乾燥 MEND の *in vivo* における遺伝子発現能について検討を行った。

【方法】MEND 懸濁液を糖共存下で凍結乾燥した。凍結乾燥 MEND について、再水和後に粒子径やゼータ電位・AFM 等の物性評価、及びルシフェラーゼ遺伝子発現活性測定による機能性評価を行った。*in vivo* においてマウスに濃縮再水和させた凍結乾燥 MEND を投与し、その動態および GFP 遺伝子発現の評価を行った。

【結果・考察】MEND 懸濁液を糖の非共存下で凍結乾燥した結果、再水和時に凝集してしまい、AFM 観察において構造が破壊された状態であることが認められた。さらに遺伝子発現活性が 1/10000 にまで低下しており、凍結乾燥前と同等の状態と機能性を得ることは難しかった。しかし糖の共存下で凍結乾燥させることにより、凍結乾燥 MEND の再水和後においても粒子径・ゼータ電位の変化もなく物性が保護されており、凍結乾燥前と同等の遺伝子発現活性を有していた。また *in vivo* における投与の結果、MEND は構造を維持したまま皮下および筋肉内に局在することが観察された。さらに MEND が局在した筋層では GFP 遺伝子の有意な発現が認められた。現在、治療遺伝子を封入した MEND による *in vivo* における治療効果の検討を行っている。