

ナノキャリアを用いた *in vitro/in vivo* 活性相関解析
○野口 裕生¹, 林 泰弘¹, 原島 秀吉¹(¹北大院薬)

【目的】 *in vitro* (細胞系) と *in vivo* (動物系) において、一方では効果を示すのにもう一方では効果が十分でないといったような、両者の相関がとれないという現象は生命科学の様々な研究において問題とされてきた。そのようなことから、*in vitro* と *in vivo* の間には大きな差、「死の谷」が存在すると言われている。しかし、この問題に対してその原因を直接、定量的に示した報告は今までにない。そこで本研究では、核酸ナノキャリアの動態を定量的に評価することで、*in vitro* と *in vivo* の大きな差が生み出される原因を明らかとした。

【方法】 siRNA 封入オクタアルギニン修飾多機能性エンベロープ型ナノ構造体 (R8-MEND) を単純水和法により調製し、*in vitro* 実験では Hepalclc7 細胞に、*in vivo* 実験では C57BL/6 マウスにトランスフェクションした。その後、各時間において細胞または臓器を回収し、標的 mRNA のノックダウン効果の定量は、定量的 RT-PCR 法 (qRT-PCR) で、siRNA 量の定量は stem-loop qRT-PCR 法で行った。

【結果】 トランスフェクション後 24 時間までの細胞内 siRNA 量の変化、さらに、24 時間後における細胞内 siRNA 量とノックダウン効果の相関は、意外にも *in vitro* と *in vivo* で大きな差はなかった。一方、トランスフェクション後 30 分の細胞内 siRNA 量には大きな差があり、低投与量になればなるほど *in vitro* に比べ *in vivo* では、はるかに siRNA の存在量が少なく、投与量に対し劇的に減少した。

【考察】 *in vitro* と *in vivo* の大きな差は、ナノキャリアが細胞内に取り込まれた後の過程というよりもむしろ、全細胞または肝臓へ集積するまでの過程で生み出されると考えられる。