

28M-am05S

低濃度 RNA 干渉を目指した新規ポリカチオンリポソームの設計と有用性評価
○迫 真理子¹, 李 嬌¹, 岡本 彩香¹, 浅井 知浩¹, 出羽 毅久², 奥 直人¹(¹静岡県大薬, ²名古屋大院工)

【目的】本研究は、低濃度の small interfering RNA (siRNA) で RNA 干渉効果を示すベクターの設計を目的としている。まず、siRNA の体内安定性および送達効率向上のため、新規ポリアミン脂質誘導體 dioleoylphosphate-diethylenetriamine conjugate (DOP-DETA) を用いたポリカチオンリポソーム (DOP-DETA-PCL) を調製し、siRNA/DOP-DETA-PCL 複合体 (DOP-DETA-Lipoplex) の有用性評価ならびに siRNA 導入効率の決定因子に関する検討を行った。

【方法】はじめに、DOP-DETA/dipalmitoylphosphatidylcholine/cholesterol=2/1/2 の組成からなる DOP-DETA-PCL を作製し、DOP-DETA-PCL の脂質濃度と siRNA の保持能の関連を電気泳動法にて検討した。続いて、FITC 標識 siRNA を用いて脂質濃度の異なる DOP-DETA-Lipoplex を作製し、MDA-MB-231 ヒト乳がん細胞への取り込みを蛍光定量により評価した。また、MDA-MB-231 細胞における FITC 標識 siRNA の細胞内分布を共焦点レーザー顕微鏡観察により評価した。さらに、DOP-DETA-Lipoplex の RNA 干渉効果について、EGFP 発現 HT1080 ヒト線維肉腫細胞を用いた評価系で比較検討を行った。

【結果・考察】電気泳動の結果より、DOP-DETA-PCL の siRNA の保持能は、siRNA に対する脂質のモル比に依存することが示された。また、DOP-DETA-Lipoplex は相対的に脂質濃度が高いほど効率的な細胞内取り込みを示し、取り込まれた後の siRNA は細胞質全体に分布していることが共焦点レーザー顕微鏡観察により明らかになった。さらに、DOP-DETA-Lipoplex は脂質濃度が高いほど低濃度の siRNA でも RNA 干渉効果を示した。DOP-DETA-PCL は、従来のベクターと比較して優れた導入効率を示し、新たな siRNA 送達ベクターとしての有用性が示唆された。