

28M-am10S

Intelligent shRNA expression device の *in vitro*, *in vivo* における有用性評価
○金城 望¹, 安藤 英紀¹, 田良島 典子¹, 南川 典昭¹, 石田 竜弘¹ (徳島大薬)

【目的】以前より我々は、新規核酸デバイスとして intelligent shRNA expression device (iRed) を開発してきた。iRed は、shRNA をコードしたプラスミド DNA (pDNA) よりも短い二本鎖 DNA であり、効率的な shRNA 産生誘導が期待できる。また、iRed は dNTPs の 4'位の酸素原子を硫黄原子に置換した dSNTPs を構成成分としており、生体内での高い安定性も期待できる。本研究では、ルシフェラーゼに対する shRNA をコードした iRed (Luc iRed) を用い、標的遺伝子発現抑制効果について検討した。

【方法】ルシフェラーゼを恒常発現させたヒト胸膜中皮腫細胞 (MSTO-211H-Luc) に対し、Luc iRed を細胞内に導入し、その後のルシフェラーゼ活性および shRNA 産生を検討した。MSTO-211H-Luc 細胞をマウス胸腔内に移植した胸膜中皮腫モデルマウスを作成し、Luc iRed を胸腔内投与後のルシフェラーゼ活性変化を観察した。

【結果および考察】*In vitro* において、iRed は持続的な shRNA 産生を介した高い標的遺伝子抑制効果を発揮した。*In vivo* においても、有意な標的遺伝子抑制効果を発揮した。また、iRed は構成塩基として dSNTPs を用いており、dNTPs で構成された pDNA や double strand DNA と比較して Toll-like receptor 刺激を介した自然免疫応答を回避することを以前に報告している。以上より、iRed は生体内での免疫反応を誘導することなく細胞内での持続的な shRNA 産生を介した標的遺伝子抑制を可能にする有益な核酸デバイスであると考えられた。