

PCL/siRNA 複合体凍結融解による簡便な siRNA の内封

○小出 裕之<sup>1</sup>, 岡本 彩香<sup>1</sup>, 出羽 毅久<sup>2</sup>, 浅井 知浩<sup>1</sup>, 奥 直人<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>静岡県大薬, <sup>2</sup>名工大工 )

【目的】標的 mRNA を選択的にノックダウンする small interfering RNA (siRNA) は、がんなどの難治性疾患治療へ応用が期待されているが、血清中で容易に分解されてしまうため、全身投与には有用なベクターが必要とされている。脂質二重膜からなるリポソームは、siRNA デリバリーに有用な手段ではあるが、リポソーム内部への siRNA の封入には、特殊な技術や有機溶媒を用いる必要がある。そこで我々は、リポソームと siRNA の複合体を凍結融解することで、ワンステップで簡単に siRNA をリポソームに内封する方法を開発し、その評価を行った。

【方法】 siRNA デリバリーに向けて、Dicetylphosphate-diethylenetriamine (DCP-DETA) を含んだポリカチオンリポソーム (PCL) を用いた。PCL と siRNA は、室温で 20 分間インキュベートすることで複合体を形成した。その後、液体窒素にて凍結し、攪拌しながら融解した。PCL に結合していない siRNA はポリアクリルアミドゲル電気泳動により分離し、染色した。siRNA の血清中での安定性は、凍結融解した複合体を FBS 中でインキュベートすることで検証した。

【結果・考察】 PCL と siRNA の複合体を凍結融解すると、凍結融解の回数に依存して、siRNA の結合容量が増加した。多重膜 PCL のみを凍結融解すると 1 枚膜の PCL が調製されるが、1 枚膜の PCL と siRNA の複合体を凍結融解すると、再び多重膜の PCL が形成された。さらに、凍結融解した PCL/siRNA 複合体中の siRNA は、血清中で分解されることなく存在していた。以上より、PCL と siRNA の複合体を凍結融解することで、脂質膜の間に siRNA が入り込んだ多重膜の PCL/siRNA 複合体が形成され、血清中においても安定に siRNA が存在している可能性が示された。