

課題番号	LR001
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 22 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	多段階的な細胞内・核内動態精密制御機能を搭載した多重コーティング型ナノ粒子の創製
研究機関・ 部局・職名	北海道大学 ・ 大学院薬学研究院 ・ 准教授
氏名	秋田 英万

1. 当該年度の研究目的

従来の遺伝子キャリアの多くは、細胞への取り込みを促進するためにカチオン性成分（脂質）が用いられてきた。一方、我々はこれまで、細胞内に取り込まれたカチオン性成分が DNA の核内における解離を増悪し、転写を阻害することや、細胞質における mRNA との相互作用に伴う翻訳阻害を引き起こすことを示唆する結果を得ている。また、カチオン性の高いベクターは、血中投与後に生体成分と非特異的な相互作用を起こすため、血中における安定性・滞留性が悪く、毒性も高い。H22年度は、細胞内動態・核内動態制御、さらには in vivo 毒性の観点を重視して、中性電荷かつ、ポリカチオンの使用を極力減らしたパッケージング技術を確立する。また、多重コーティング技術の最初のプロセスとして、1段階目のコーティング産物を精製し、また、長期保存する方法論について確立する。

2. 研究の実施状況

内膜の膜枚数制御を行うために、遺伝子とポリカチオンの凝集体コアをテトラエチレングリコール修飾コレステロール (TEG-Co1) 含有脂質膜でコーティングした。本コーティング後には、目的の構造物と共に、封入されていない遺伝子や、逆に遺伝子を封入していない空のリポソームが含まれている。従って、2段階目の脂質膜パッケージングに移る際には、目的の構造物を空のリポソームや未封入 DNA から除去する必要がある。さらに、多重コーティングはプロセスが多いことから、中間産物としての1枚膜粒子を大量に調整し、かつ長期的に保存する技術が必要である。そこで、本年度は、スクロース密度勾配遠心法に基づき、1枚膜のナノ粒子の精製をおこなうための条件検討を行った。さらに本ナノ構造体を凍結乾燥する上で至適なバッファー条件を見出すことに成功した。また、本精製後のナノ構造が1枚の脂質膜よりなることは、電子顕微鏡観察により明らかとした。

また、中性な脂質へのパッケージングに関して、脂質分子構造を工夫し、さらに脂質の配合比などを最適化した結果、最終的には従来のカチオン性脂質を用いた場合と比較しても同程度の遺伝子発現を示すナノ粒子を創製することに成功した。また、本粒子は、血清存在下で高い発現を示すことから、in vivo 投与においても有用であることが期待される。さらに、細胞への取り込みを評価した結果、中性脂質のナノ粒子は従来のカチオン性のものと比較しても極めて低いことが示された。低い取り込みに関わらず、高い遺伝子発現を示すことが可能な点で、細胞内動態の観点から極めて優れた特性を有する脂質であることを意味する。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

雑誌論文 計0件	(掲載済み一査読有り) 計0件 (掲載済み一査読無し) 計0件 (未掲載) 計0件
会議発表 計0件	専門家向け 計0件 一般向け 計0件
図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	
国民との科学・技術対話の実施状況	
新聞・一般雑誌等掲載 計1件	北海道バイオレポート2011 (経済産業省 北海道経済産業局発行) 14ページ目に研究紹介記事の掲載
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成22年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計) (単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額
直接経費	117,000,000	0	53,770,000	63,230,000
間接経費	35,100,000	0	16,131,000	18,969,000
合計	152,100,000	0	69,901,000	82,199,000

2. 当該年度の収支状況 (単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を 除く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度 執行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額
直接経費	0	53,770,000	0	53,770,000	310,000	53,460,000
間接経費	0	16,131,000	0	16,131,000	93,000	16,038,000
合計	0	69,901,000	0	69,901,000	403,000	69,498,000

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	310,000	卓上小型遠心機、実験試薬
旅費	0	
謝金・人件費等	0	
その他	0	
直接経費計	310,000	
間接経費計	93,000	
合計	403,000	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
				0		
				0		
				0		