

ゲノムスケールの DNA 設計・合成による細胞制御技術の創出
2019 年度採択研究者

2020 年度 年次報告書

真栄城 正寿

北海道大学 大学院工学研究院
助教

人工エクソソームによる長鎖 DNA の細胞導入法の開発

§ 1. 研究成果の概要

本研究は、「人工的に再構成したエクソソームを用いた長鎖 DNA の細胞導入技術を開発することを目的としている。

「長鎖 DNA 搭載エクソソーム様ナノ粒子の作製と性能評価」については、核酸を高効率に粒子内部に搭載したエクソソーム様のナノ粒子を作製するための条件を確立した。マイクロ流体デバイスへの原料溶液の送液条件や緩衝液を最適化することで、粒径を精密に制御しつつ、40～80%の核酸搭載率を示す人工エクソソームを作製することができた。モデル系として短鎖 RNA である siRNA を搭載した人工エクソソームを作製し、トランスフェクション性能を評価した結果、細胞毒性なく標的タンパク質の発現を抑制することが可能であった。また、人工エクソソームとの細胞への遺伝子導入効率を比較するために、pH 応答性脂質をベースとした脂質ナノ粒子への 3～15 kbp の pDNA の搭載を試みた。その結果、高い pDNA 搭載率かつ粒径 100nm 以下の粒子を作製でき、遺伝子導入効率における核酸のサイズの影響を明らかにした。「ナノ粒子の粒径分離のためのマイクロ・ナノデバイスの開発」については、微細加工技術を駆使することでナノ粒子の分離が可能なデバイスを開発した。その結果、脂質ナノ粒子の物性と分離挙動の関係を明らかにすることができた。「エクソソーム・脂質ナノ粒子による細胞への長鎖 DNA 導入過程の解明」については、脂質の種類や粒径、添加剤、および、pDNA のサイズが、細胞への DNA の導入効率やタンパク質発現効率に与える影響を明らかにした。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Development of a Microfluidic-Based Post-Treatment Process for Size-Controlled Lipid Nanoparticles and Application to siRNA Delivery”, ACS Applied Materials & Interfaces, vol. 12, pp. 34011-34020, 2020
- 2) “The use of design of experiments with multiple responses to determine optimal formulations for in vivo hepatic mRNA delivery”, Journal of Controlled Release, vol. 327, pp. 467-476, 2020
- 3) “Lipid nanoparticles loaded with ribonucleoprotein-oligonucleotide complexes synthesized using a microfluidic device exhibit robust genome editing and hepatitis B virus inhibition”, Journal of Controlled Release, vol. 330, pp. 61-71, 2021
- 4) “One-Step Production Using a Microfluidic Device of Highly Biocompatible Size-Controlled Noncationic Exosome-like Nanoparticles for RNA Delivery”, ACS Applied Bio Materials, vol. 4, pp. 1783-1793, 2021
- 5) “Three-Dimensional, Symmetrically Assembled Microfluidic Device for Lipid Nanoparticle Production”, RSC Advances, vol. 11, pp. 1430-1439, 2021