

S2-2

プラズマによる遺伝子・分子導入現象の機序を電気の立場で考える Approach to the Mechanism of Plasma Gene and Molecule Introduction from the View Point of Electrical Engineering

○神野 雅文^{1,3}、本村英樹¹、木戸 祐吾^{1,2}、池田善久¹、佐藤 晋^{1,3}
 Masafumi Jinno^{1,3}, Hideki Motomura, Yugo Kido^{1,2}, Yoshihisa Ikeada¹, Susumu Satoh^{1,3}
¹愛媛大院理工、²パール工業、³アイジーン
¹Ehime University, ²Pearl Kogyo Co. Ltd., ³i-Gene Corp.

著者らは、高効率で低侵襲かつ安全な遺伝子導入法として、微小放電プラズマ（micro-discharge plasma: MDP）を用いたプラズマ遺伝子導入法を開発している。この技術では、放電プラズマ処理によって電流や電界といった電気的要因とラジカルを中心とした活性種などの化学的要因が細胞に供給され、これらが複合的に作用して導入が実現される。

プラズマを作成させ遺伝子や分子を細胞内に導入する際に有効な電気的要因としては電界があげられることが多い。しかし、我々の用いているマイクロプラズマ法や沿面放電法では電流が細胞表面ないしは細胞内を通過して

いると考えられることから、電界と電流のどちらが、もしくはその両方が有効な機序要因であるのかを解明する必要がある。

本稿では、緩衝液と細胞を分離して表現した電気回路網によりウェル上の緩衝液と細胞の空間分布モデルを構築し、細胞に作用する電圧と電流を算出し、その強度と導入率の空間分布について検討した結果を報告する。

細胞は細胞膜と細胞質からなるものとし、それぞれ静電容量Cと抵抗Rで表す。細胞は96ウェルプレートの底面（コンデンサ C_0 ）に接着培養されており、TE/PBS緩衝液（抵抗 R_0, R_1 ）を滴下

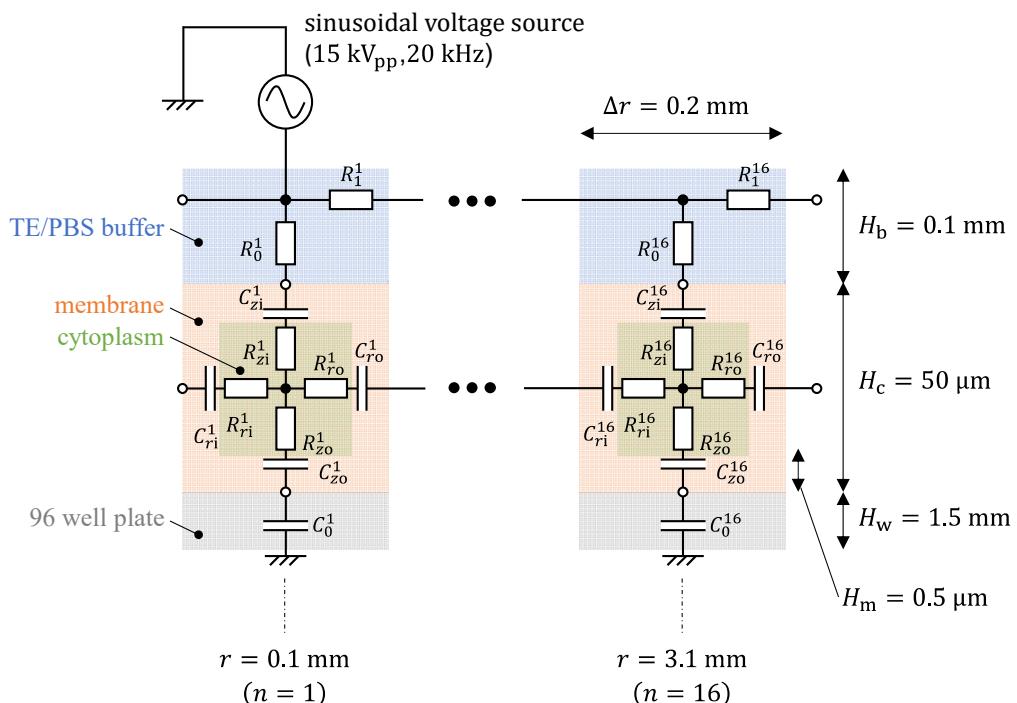


図 1 細胞と緩衝液の等価回路網モデル
軸対象で中心からウェル壁までを 16 分割した集中定数回路の結合で表現している。

した状態でプラズマを照射する。したがって、放電は20 kHzの正弦波によるので、ウェルのサイズは波長に比べて十分に小さく、図1のような回路網でウェル上の細胞と緩衝液を表現できる。この回路網から求めた電流密度の実効値の径方向分布規格化した遺伝子導入効率を図2に示す。この図から、細胞を流れる電流密度の変化と遺伝子導入効率の変化の形がよく一致している。しかし、電流密度と電界は導電率を介して比例関係にあるため、径方向分布の形状の一致だけでは電流と電界のどちらが有効なのか判断がつかない。そこで、電流と電圧の絶対値を算出し、細胞の活動電位と膜輸送による電流と比較した結果を図3に示す。この図から判るように、プラズマにより細胞に与えられる電界は活動電位と同程度であるのに対して、電流は膜輸送時の電流よりも十分に大きく、これが膜輸送を惹起する刺激源として有効であると推測される。

このように、電気回路論的アプローチにより、プラズマ遺伝子導入現象の機序に一歩迫ることができ、電気工学的アプローチの有用性が示された。

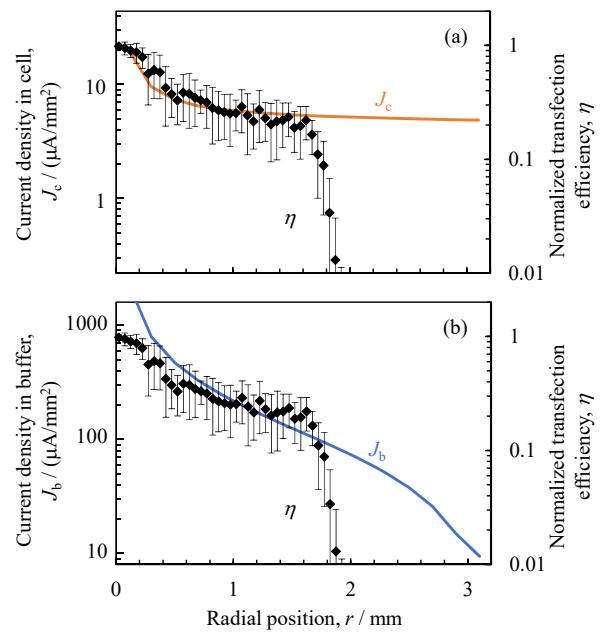


図2 (a) 細胞および (b) TE/PBS 緩衝液を流れる電流密度の実効値 (J_c , J_b) の径方向分布と規格化遺伝子導入効率 (η)

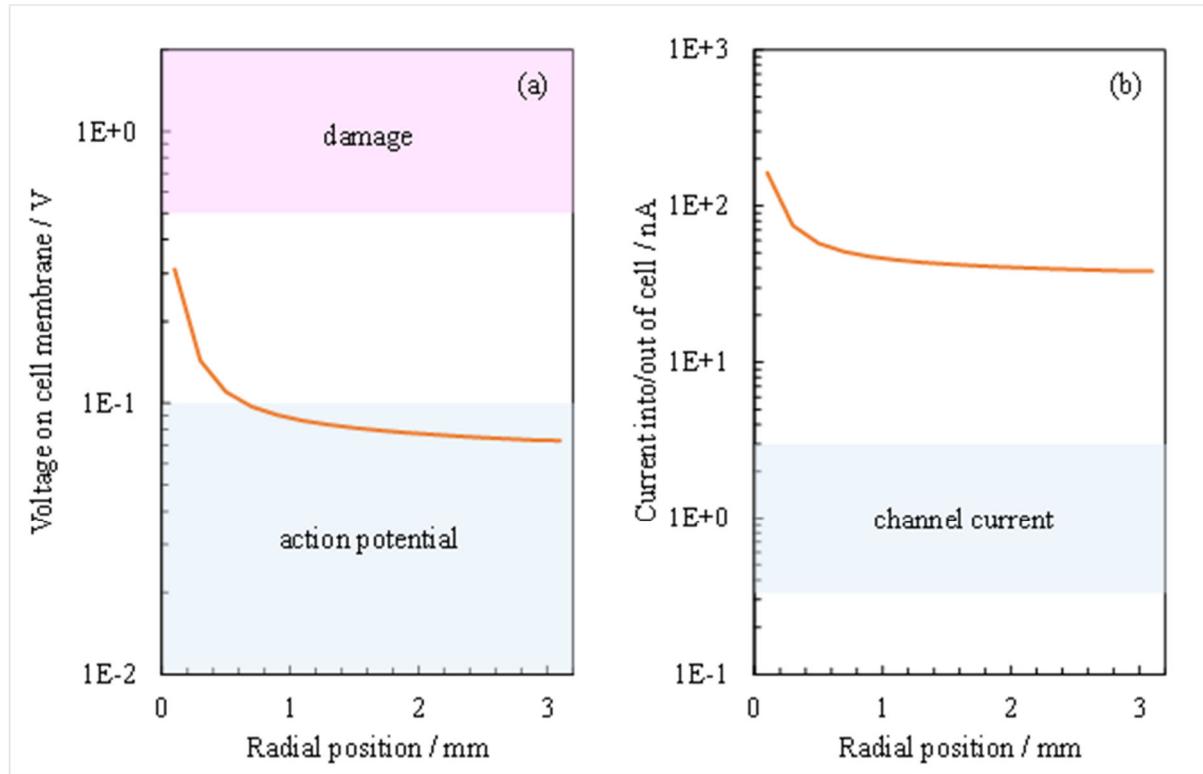


図3 (a) 細胞膜にかかる電圧および (b) 細胞を流れる電流の実効値の径方向分布。青色で塗りつぶした領域はそれぞれ通常の細胞活動で引き起こされる活動電位 (0.1 V 程度以下) と、イオンチャネルを通した膜輸送による電流値 (1 nA オーダー) を、赤色で塗りつぶした領域は細胞膜損傷を引き起こす電圧 (0.5 V 程度以上) を示している。