

プラズマ遺伝子導入の高周波化検討 Gene transfection by high frequency plasma

橋本浩充¹, 神野 雅文¹, 木戸 祐吾^{1,2}, 佐藤 晋^{1,3}
Hiromitsu Hashimoto¹, Masafumi Jinno¹, Yugo Kido^{1,2}, Susumu Satoh^{1,3}

愛媛大院理工¹, パール工業², ワイ'ズ³
Ehime Univ.¹, Pearl Kogyo Co., Ltd.², Y' s Corp.³

1. 序論

我々は、周波数20 kHz の正弦波電圧を銅極細電極に印加することで微小なプラズマを生成し、DNA 溶液に浸した細胞に照射することで、高効率で低侵襲な遺伝子導入を実現した[1]。しかし、20 kHz の電源は変圧器が大型で高コストなため実用化に不向きである。そこで本研究では、変圧器が小型で安価になる2 MHz の周波数で遺伝子導入に最適なプラズマ照射条件を検討した。

2. 実験方法

標的細胞として L-929 (マウス線維芽細胞) を 96 well プレート上に培養し、プラスミド DNA (pAcGFP1-N1:Contech 社) 6 μ g を溶解した緩衝液 6 μ L を滴下して、1 mm 上方に配置した極細銅電極 (HV 電極、直径 70 μ m) に正弦波電圧を 0.5 msec 間印加してマイクロプラズマを照射する。接地対向電極として銅板を 96 well プレートの裏面に配置した。プラズマ処理から 48 時間培養した後、蛍光発現数をカウントし導入効率を算出した。今回、電流値を変化させて、遺伝子の導入の様子や導入効率を比較し、2 MHz の電源において遺伝子導入に最適な条件を検討した。

3. 結果と考察

細胞生存率及び導入効率の電流依存性を図 1 に示す。電流値が 680 mA まではプラズマが弱く、導入範囲が狭いために導入効率は低かった。次に、電流値が 720 mA の時、高い導入効率を得られ、一つのサンプルでは、20 kHz 時の導入効率と同程度の 15% の導入効率を得ることが出来た。しかし、別のサンプルでは図 2 (左) のように放電が電極直下に落ちず、放電路上の細胞が死滅した。そして電流値が 760 mA 以上になると全てのサンプルで図 2 (左) のように放電が電極直下に落ちず、細胞生存率が低くなった。今回の実験結果より、2 MHz 時の遺伝子導入の最適な電流値は、720 mA ~ 760 mA であることが予測される。一方で、720 mA の時も放電が電極直下に落ちず不安定な場合があったので、今後放電を確実に安定させる方法について検討していく必要がある。

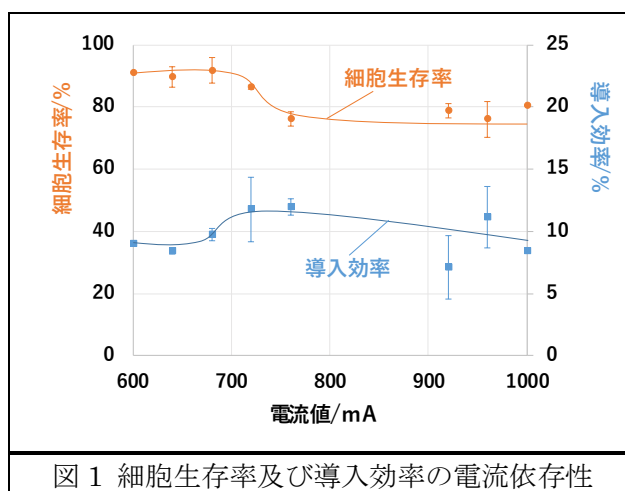


図 1 細胞生存率及び導入効率の電流依存性

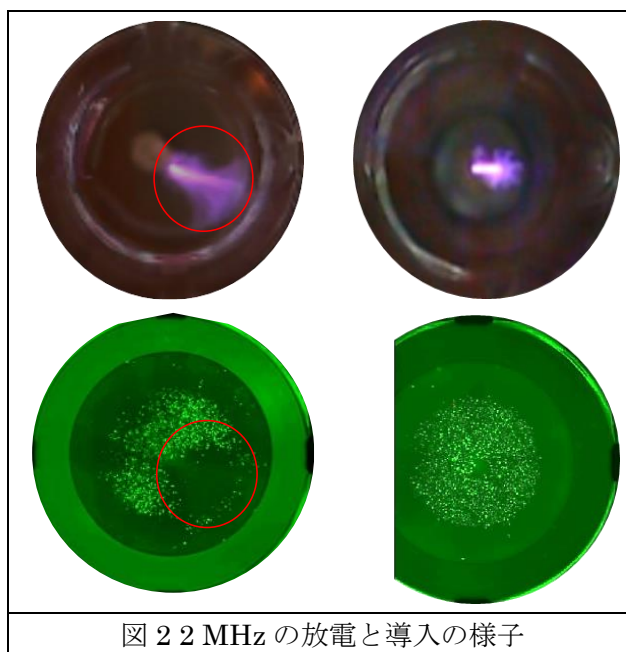


図 2 2 MHz の放電と導入の様子

[1] M. Jinno *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.*, **55**, 07LG09 (2016)