

実用化に向けたプラズマ遺伝子導入の機序検討と応用 Investigation on plasma gene transfection for practical application

神野雅文¹, 池田善久¹, 木戸 祐吾^{1,2}, 佐藤 晋^{1,3}
Masafumi Jinno¹, Yoshihisa Ikeda¹, 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

2002年にプラズマ照射により細胞に遺伝子が導入されその機能が発現される現象が見いだされた。著者らはこの技術の実用化に向け、安定性と再現性の向上と導入の機序解明、そしてこの技術の応用に取り組んできた結果、微小なプラズマを用いれば高導入効率と低侵襲性を両立でき(図1)、図2に示すようにプラズマの電気的要因と化学的要因の両方が導入には不可欠であり、導入プロセスはエンドサイトーシスが支配的であることがわかっている。実用を考えた場合、プラズマの影響は必要最小限に抑えることが望ましい。そこで、本研究では、遺伝子導入をプラスミドDNAの細胞への輸送と輸送されたプラスミドDNAの発現の2つの課程に分離手考え、発現を改善することで、導入率の改善を試みた。

2. 実験方法と結果

本研究ではエンドサイトーシスで導入された後の細胞内の分解経路(図3)に焦点を当て、各経路の阻害剤であるNocodazole、Chloroquine、LY-294 002の3つの試薬を用い分子運搬経路を阻害し遺伝子の安定性の改善を試みた。その結果、Nocodazoleを用いて遺伝子導入を用いた場合、阻害剤を用いなかった場合と比べ遺伝子導入効率が約5倍に上昇し、Chloroquine、LY-294 002を用いた場合も同じように2倍、1.5倍に遺伝子導入効率が向上した。

3. 結論

各分解経路を阻害することで遺伝子の安定性を改善できた。さらに、NocodazoleとChloroquineを組み合わせるとそれぞれの阻害効果で遺伝子発現効率がさらに改善されることを期待したが、その効果は得られなかった。これは、NocodazoleがChloroquineの試薬作用が発現される前に分子運搬経路を阻害したためと考えられ、後期エンドソーム以降とオートファゴソームが形成された後の分子運搬経路がほぼ同一であると結論できる。

