

## 遺伝子細胞膜透過性に対するプラズマ照射起因 電氣的ストレスと酸化ストレスの効果

### Effects of Electric and Oxidative Stress from Plasma Irradiation on Cell Membrane Permeability of Gene

東北大院工<sup>1</sup>, 東北大院医工<sup>2</sup> ◦佐々木 渉太<sup>1</sup>, 神崎 展<sup>2</sup>, 金子 俊郎<sup>1</sup>,

Dept. of Electronic Eng., Tohoku Univ.<sup>1</sup>, Dept. of Medical Eng., Tohoku Univ.<sup>2</sup>

◦Shota Sasaki<sup>1</sup>, Makoto Kanzaki<sup>2</sup>, Toshiro Kaneko<sup>1</sup>

E-mail: sasaki12@ecei.tohoku.ac.jp

遺伝子導入は、医学・生物学の中心テーマである遺伝子機能解析や iPS 細胞作製等に欠かせない必須の技術である。また、癌やエイズ等の治療法として期待される遺伝子治療実現において、低侵襲・高効率遺伝子導入法の開発が急務の課題となっている。しかし、これまでに開発されてきたエレクトロポレーション法等の遺伝子導入法は、低い細胞生存率や装置が高価であること等の課題が存在し克服が困難な状況にある。これに対して、近年、安価な設備を用いた画期的な遺伝子導入法としてプラズマ照射の利用が報告されているが、アーク放電由来の細胞損傷が大きく、導入機構も解明されていないことから、実用化に至っていない。筆者らは低温プラズマでこの問題を克服できると考え、これまでに非平衡大気圧プラズマを用いることで、細胞損傷を抑制し、高効率な導入を実現してきた[1]。今回は、導入機構解明に向けて、プラズマの物理的作用と化学的作用が遺伝子導入に大きく寄与すると考え、それらを制御したプラズマを生細胞へと照射した後、細胞膜透過性の指標となる導入効率及び細胞生存率を評価したので、その結果を報告する。

実験は、ヘリウムを原料ガスとした大気圧プラズマジェット (周波数  $f \approx 10$  kHz, 電圧  $V_{p-p} \approx 10$  kV) を用いて行った。遺伝子を模擬した蛍光物質 YOYO-1 をあらかじめ混合した細胞懸濁液に対して様々な条件下で照射を行い、導入効率及び細胞生存率を評価した。

図 1 に示すように、電界パルスのみを使用するエレクトロポレーション法では低い生存率であるのに対して、プラズマ照射の場合は、最適な照射時間・生成電圧・照射距離にすることで、高い生存率を保ちながら非常に高効率に細胞内に導入が可能となった。このことは、プラズマ照射に伴う細胞への電氣的ストレス (物理的作用) と活性種による酸化ストレス (化学的作用) が同時に加わり、それらの相乗効果で膜輸送体を介した細胞内導入が促進されたためと考えられる。

講演では、詳細な導入効率・生存率の各照射条件依存性に加え、細胞膜透過性上昇に寄与するプラズマの因子同定及びプラズマ照射後の細胞応答について評価した結果も合わせて報告する。

[1] S. Sasaki, et al., Appl. Phys. Express 7 (2014) 026202.

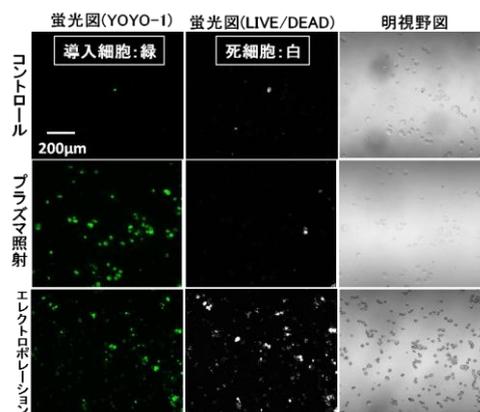


図 1: 導入効率・生存率におけるプラズマ照射とエレクトロポレーションの比較。