

複数開口ナノピペットを有する走査型イオン伝導顕微鏡を用いた単一細胞エレクトロポレーション法

Single-cell electroporation method using a scanning ion conductance microscope

with a theta type nanopipette

静岡大工¹, 新潟大医² ◯櫻井 智史¹, 山崎 晃資¹, 牛木辰男², 岩田 太¹Shizuoka Univ.¹, Nigata Univ.²,◯Sakurai Satoshi¹, Koji Yamazaki¹, Tatsuo Ushiki², Futoshi Iwata¹

E-mail: tmfiwat@ipc.shizuoka.ac.jp

1. はじめに

生物工学の分野では生細胞への外来遺伝子や染料導入は遺伝子の機能や構成要素を研究するうえで重要であり、また遺伝子治療への応用として単一細胞単位の外来分子導入手法が求められている。エレクトロポレーションは、細胞膜に微細孔を形成するための手法のひとつで蛍光試薬や遺伝子などの導入に広く用いられている¹⁾。これまで我々はナノピペットをプローブとして有する走査型イオン顕微鏡(SICM)を用いて、単一細胞へエレクトロポレーションする手法を開発してきた。ナノピペットを用いることにより、従来では細胞群に対して用いられていたエレクトロポレーションを単一細胞に適応することを可能にし、かつ走査型イオン伝導顕微鏡の距離検出技術により、低侵襲性を実現した²⁾。本発表では複数の開口を有するナノピペットであるシータ管を用いることで、単一細胞エレクトロポレーション法の操作性を向上させたので報告する。

2. 実験方法と結果

本研究では複数開口を有するシータ管をナノピペットプローブとして有する走査型イオン伝導顕微鏡を用いて単一細胞にエレクトロポレーションを行う手法を開発した。すなわち一つの開口を用いて分子の吐出制御を行い、もう一方の開口を用いて細胞とピペット先端との距離センシングおよび電圧印加を行うことで単一細胞エレクトロポレーションの操作性を向上させた。開発した装置を用いて生細胞に蛍光試薬を導入した結果を図1に示す。(a)は細胞の明視野の顕微鏡像を示し、図中の点線に囲まれた細胞に対し、エレクトロポレーションを行った。(b)は導入した蛍光試薬を示す蛍光顕微鏡像であり、周りの細胞への影響なく分子の導入を確認できた。(c)は細胞の生存性を示す蛍光試薬(Calcein-AM)で染色された細胞であり、緑の蛍光を示していることから、本手法で分子導入した細胞が生存していることがわかる。

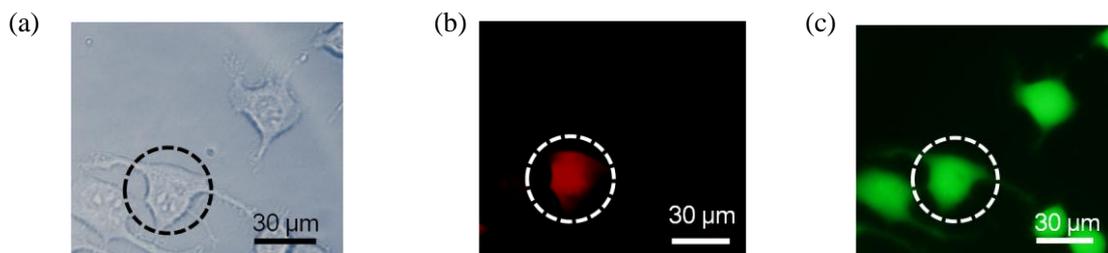


図1 HeLa 細胞への蛍光試薬導入

[1] E. Neumann et al, EMBO J. 1 (1982) 841

[2] F. Iwata, K. Yamazaki, et al., Jpn. J. Appl. Phys., 53 (2014), 036701