20a-S8-6

マイクロキャピラリー電極型プラズマ遺伝子導入法における 針状対向電極による低ダメージ化

Suppress of cell damage using needle counter electrode in plasma gene transfection with micro capillary electrode

愛媛大院理工¹,大阪電通大工²,ワイ¹ズ³,パール工業⁴ ⁰立花 宏紀¹,池田 洋平¹,木村 真徳¹,池田 善久¹,本村 英樹¹,神野 雅文¹,

橘 邦英², 佐藤 晋³, 木戸 祐吾⁴

Ehime Univ.¹, Osaka Electro-Commun. Univ.², Y's Corp.³, Pearl Kogyo Co., Ltd⁴

^oHiroki Tachibana¹, Yohei Ikeda¹, Masanori Kimura¹, Yoshihisa Ikeda¹, Hideki Motomura¹,

Masafumi Jinno¹, Kunihide Tachibana², Susumu Satoh³, Yugo Kido⁴

E-mail: mjin@mayu.ee.ehime-u.ac.jp

1. はじめに

我々はマイクロキャピラリー電極により安定したプラズマを生成し、細胞へのダメージを極在化した遺伝子導入を行うことに成功した^[1]。本研究 では更なるダメージの低減を目指し、対向電極形状を板状から針状に変更 し、放電形状とダメージ及び遺伝子導入範囲について比較検討を行った。

2. 実験方法

接着細胞(COS7)を培養したシャーレに DNA(pCX-EGFP)を滴下したものを試料とした。図1に電極構造の概略図を示す。シャーレ直上にマイクロキャピラリー高電圧電極(銅製,外径 70 µ m)、下部に針状(鉄製)または板状の接地対向電極を配置した。キャピラリ先端から He ガスを 1sccm で噴出し、電圧 24 kVp-p, 20kHz の正弦波を 20 Hz, Duty 比 1%でパルス変調したものを印加することでプラズマを生成し、試料に 5 秒間照射した。その後 24 時間培養し、蛍光発現を確認することで導入を検証した。

結果と考察

図2に示すように、対向電極の針状化により溶液表面上での放電範囲を 抑制し、プラズマ照射位置をより局在化できることが分かる。また図3 に示す顕微鏡写真により、プラズマ照射範囲を中心にその近傍の細胞は死 滅し、その外側の領域に遺伝子が導入され同心円状に分布することが分か る。板状及び針状の対向電極において、放電写真よりプラズマ照射範囲、 顕微鏡写真より細胞死滅及び遺伝子導入範囲を数値化したものを図4に 示す。どの条件でも針状化によりプラズマ照射範囲が狭まり、細胞死滅範 囲も狭くなるが、それにより遺伝子導入範囲も狭くなった。ただし、図3、 4より導入範囲と死滅範囲の面積比を計算すると針状の方が大きい値と なる。今後導入面積を保ったまま死滅範囲を小さくする工夫が必要である。 **謝辞**

本研究の一部は科学研究費補助金(新学術領域研究 22654070)の助成により行われた。また本学 INCS 重信よりプラスミドの提供を受けた。

参考文献

[1] Tadashi Okihiro: "Validation of Plasma Irradiation Effect on Gene Transfection by Using Microplasma Jet from Capillary Nozzle", *Proceeding* of 4th International Conference on Plasma Medicine, 2012, p.72,



In order to minimize cell damage area , a needle electrobe (\varnothing 0.5 mm , steel) was employed

Fig.1: Schematic of the electorode



Fig.2:Photos of plasmas by left:plate and:right needle counter electorode



Fig.3: Photos of transfected and damaged areas



Fig.4:Plasma irradiation, transfected and damaged areas