

沿面放電による遺伝子導入

Plasma Gene Transfection with Surface Discharge

愛媛大院理工¹, 大阪電通大工², ワイズ³, パール工業⁴○吉岡 優¹, 中野 孝輝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⁴Ehime Univ.¹, Osaka Electro-Commun. Univ.², Y's Corp.³, Pearl Kogyo Co., Ltd.⁴○Masaru Yoshioka¹, Koki Nakano¹, 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

著者らはプラズマ照射による遺伝子導入法の開発及び機構解明へ向けた取り組みを行っている[1]。極細キャピラリー電極先端に生成されるストリーマ放電を細胞試料に照射する方式では、プラズマが照射される部分よりもその周囲の部分で遺伝子導入が起こりやすいことが明らかになった。よって本研究では、細胞溶液表面に沿った弱い沿面放電を生成し、沿直方向の強いストリーマの照射を避け、低ダメージでの遺伝子を試みた。

2. 実験方法

図 1 に装置の概略図を示す。正弦波交流電圧(20kHz)をダイオードによって半波整流し、2本の鉄製の針電極に印加した。細胞とDNAを分散させた試料の溶液直上に配置して沿面放電を生成した。使用した細胞はアフリカミドリザル腎由来の COS7, DNA は pCX-EGFP(0.033 μ g/ μ l)である。放電後, CO₂ インキュベータにて 24 時間培養した後, 顕微鏡を用いて試料の蛍光観察を行い, 導入量の検証を行った。

3. 結果と考察

印加電圧 4kV, 放電時間 5ms, 電極 - ディッシュ間距離 1.0mm の条件における遺伝子の蛍光観察結果を図 2 に示す。電極近傍だけでなく、電極間の広い範囲で導入を示す蛍光が確認され、沿面放電の効果が示された。一方で、キャピラリー電極方式の場合[2]と同様に、正負電極直下では細胞死が確認され、沿直方向の放電を完全に抑制できていないことが示唆された。今後、沿直方向への放電を抑制するため、電圧, 放電時間, 放電距離, 電極間距離等の最適化を行っていく。

謝辞

本研究の一部は科研費補助金新学術領域研究(22654070)の助成により行われた。

参考文献

[1] 沖廣仁, その他: 「マイクロプラズマジェットによる遺伝子導入」, 第 58 回応用物理学会学関係連合講演会, 26p-CF-5, 2011

[2] T. Okihira, et al: "Validation of Plasma Irradiation Effect on Gene Transfection by Using Microplasma Jet from Capillary Nozzle, " *Proceedings of 4th International Conference on Plasma Medicine*, p.74, 2012

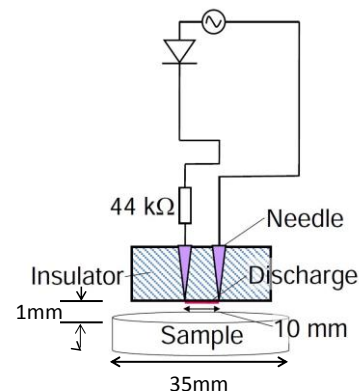


Fig.1: Experimental setup

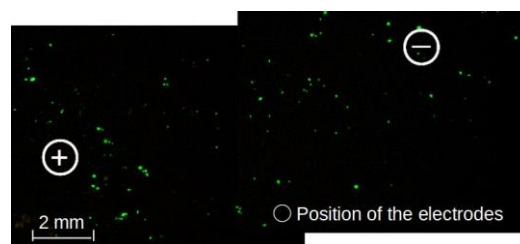


Fig.2: Fluorescence image from the transfected gene