

遺伝子導入効率に対するプラズマ直接照射の効果

Effects of Direct Plasma Irradiation on Transfection

東北大院工¹, 東北大院医工² ○佐々木 渉太¹, 神崎 展², 金子 俊郎¹,

Dept. of Electronic Eng., Tohoku Univ.¹, Dept. of Medical Eng., Tohoku Univ.²,

°Shota Sasaki¹, Makoto Kanzaki², Toshiro Kaneko¹

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

遺伝子導入は、細胞内現象の解析や iPS 細胞作製等の遺伝子操作に重要な役割を果たしている。また、癌やエイズ等の治療法としても期待されてい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といった非ウイルス遺伝子導入法は、細胞生存率が低い等の問題克服が困難なため、新たな遺伝子導入手法の開発が求められている。近年、安価な設備を用いて細胞内へ遺伝子を導入する方法としてプラズマ照射の利用が報告されているが、導入効率は低く、導入メカニズム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、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していると考え、それらを制御した大気圧プラズマを生細胞へと照射し、遺伝子導入に対する効果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、図 1 に示すように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。図 1 において、照射距離 ($d_g + d_{air}$) は下部電極とガラス管先端までの距離 (d_g) と先端から細胞懸濁液までの距離 (d_{air}) で定義される。遺伝子を模擬した蛍光物質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った。この際、生細胞に対してプラズマが直接照射される方式 (DPI: Direct Plasma Irradiation) とリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) にプラズマ照射した処理水を用いて細胞を懸濁する間接的な方法 (PTW: Plasma Treated Water) の 2 通りでプラズマの遺伝子導入効率 (η) 及び生存率に対する効果を評価した。

図 2 で示されるように、導入効率は、プラズマ照射時間に強く依存し、特にプラズマが直接照射される場合には、照射距離によるその特性の変化が顕著であった。このことは、プラズマ照射によって液中に生成された活性種だけではなく、直接照射されたときのみ生じる電界や PBS の電位変化等も遺伝子導入の要因である可能性が高いことを示唆している。講演では、これらの結果に加え、導入効率に影響を与えるプラズマジェットの有効範囲について評価した結果も合わせて報告する。

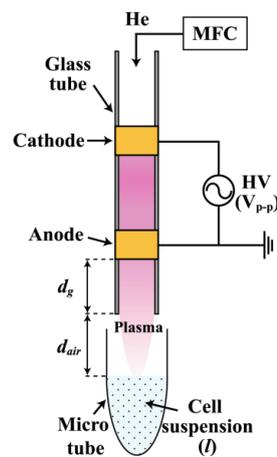


図 1. 装置の概略図

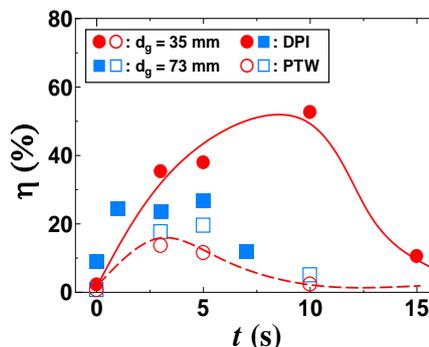


図 2. 各照射距離における直接照射、間接照射の照射時間依存性。