

リポソームを用いたプラズマ遺伝子導入機構の解明

Analysis of Plasma Gene Transfection Mechanism Using Liposome

愛媛大院理工¹, パール工業², ワイズ³, 大阪電通大工⁴

相原大二郎¹, 永岩秀憲¹, 木戸祐吾^{1,2}, 池田善久¹, 本村英樹¹,
佐藤晋^{1,3}, 神野雅文¹, 橋邦英⁴

Ehime Univ.¹, Pearl Kogyo Co., Ltd.², Y's Corp.³, Osaka Electro-Commun. Univ.⁴

Daijiro Aibara¹, Hidenori Nagaiwa¹, Yugo Kido^{1,2}, Yoshihisa Ikeda¹, Hideki Motomura¹,
Susumu Satoh^{1,3}, Masafumi Jinno¹, Kunihide Tachibana⁴,

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

1. はじめに

我々はプラズマ照射による遺伝子導入法の機序解明へ向けた取り組みを行っている[1]。リポソームは生体細胞と同様な脂質二重膜からなる閉鎖小胞体であり、細胞膜の機能や構造を理解する目的で盛んに研究されている。本研究は生体細胞の代わりにリポソームにプラズマを照射し、rhodamine-DHPE色素の導入実験を行ったので報告する。

2. 実験方法

本研究ではリン脂質である dioleoyl phosphatidylcholine (DOPC)を用いて、静置水和法によりリポソームの作製を行う。図1に静置水和法の作製手順を示す。この手順で作製したリポソーム溶液と蛍光色素 rhodamine-DHPE を 96well プレートに滴下したものをサンプルとする。サンプルの上方にマイクロキャピラリー電極をセットし、96well プレートの底面に密着させた銅板を対向電極とする。マイクロキャピラリー電極とサンプル溶液表面との間の距離を 1 mm とし、両電極間で放電させることでプラズマを生成する。マイクロキャピラリー電極には外径 70 μm の銅管を使用する。図2に実験装置の概略図を示す。マイクロキャピラリー電極へは振幅 12.5 kV、周波数 20kHz の正弦波を 24 周期だけ印加する。プラズマ照射後蛍光観察を行い、リポソームへの色素導入を観察する。

3. 結果と考察

プラズマ照射によるリポソームへの色素導入の蛍光観察結果を図3に示す。図に示すように、色素が導入されたリポソーム(黄丸)と色素が導入されず、外膜に付着したリポソーム(赤丸)が存在する。本結果からプラズマ照射により、脂質二重膜に穿孔が起き、色素が導入されたことが示唆される。今後、マイクロキャピラリー電極でのプラズマ照射による脂質二重膜へのダメージについて SEM または AFM を用いて微視的に検討する。

謝辞

本研究の一部は科研費補助金新学術領域研究(25108509)の助成により行われた。

参考文献

[1] M.Jinno et al, J.Photopolymer Sci. Technol.,27(2014)399

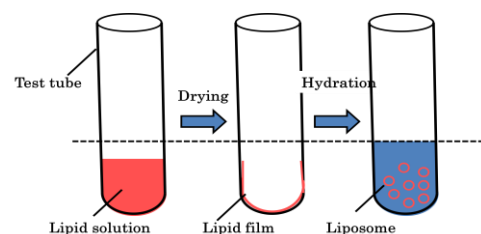


Fig.1: Liposome formation process by hydration method

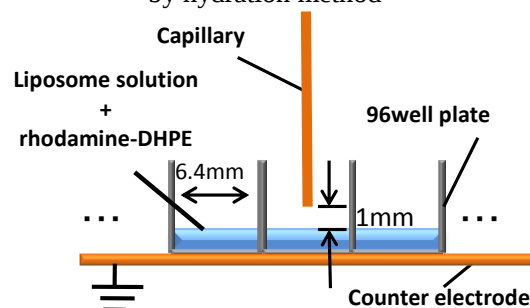


Fig.2: Experimental setup

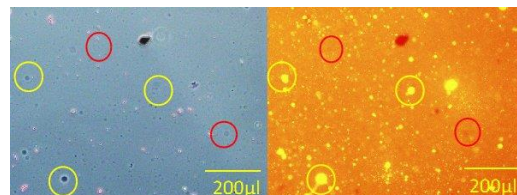


Fig.3: Fluorescence image from the transfected rhodamine-DHPE