

プラズマバブルによる遺伝子導入

Gene injection by the plasma bubble

○大隣 啓志¹、尾形 宏輝¹、辻本 大介¹、山西 陽子¹²(1. 芝工大工、2. JST PRESTO)

○Keishi Ohtonari¹, Hiroki Ogata¹, Daisuke Tsujimoto¹, and Yoko Yamanishi¹²

(1. Department of mechanical engineering, Shibaura Institute of Technology, Japan,

2. Japan Science and Technology of Agency PRESTO, Japan.)

E-mail: yoko@shibaura-it.ac.jp

本研究では、近年着目されつつあるプラズマによる遺伝子導入技術[1]を応用し、大気圧液中下においてプラズマ及び高速気泡を発生させる装置として、プラズマバブルインジェクターを開発し、プラズマ由来の活性種等の作用を内包した気泡を広範囲に拡散させ細胞に照射することで遺伝子を導入する試みを行った。図1にプラズマバブルを用いた遺伝子導入のコンセプトを示す。このチップは細胞と導入する遺伝子の懸濁液を入れる流路部、懸濁液に流れを持たせるためのローター部、プラズマバブルインジェクターを用いて遺伝子導入を行う導入部から構成されている。ローターを回転させることにより常に懸濁液を回転させながらの遺伝子導入が可能であり、一部の細胞のみにプラズマを内包した気泡が当たることを防ぐことが可能である。つまり、多数の細胞に均一に遺伝子を導入することが可能となる[2]。図2にプラズマバブルインジェクターを示す。

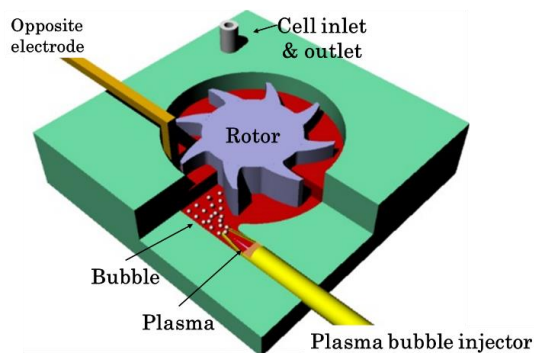


Fig. 1. Concept of circulating plasma-bubbles laden flow for high-throughput gene injection

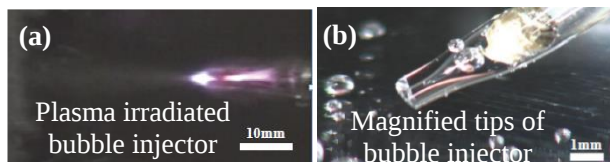


Fig. 2. Photos of plasma-bubbles injection probe (a) irradiation plasma jet, (b) magnified view of the tip of bubble injector

遺伝子導入実験は以下の手順で行った。接着細胞 (HeLa 細胞) を浮遊状態にし、導入する遺伝子 (pCX-EGFP) と懸濁させ、チップの流路部分に導入、ローターを、細胞がチップに再

接着しないよう、回転させることにより懸濁液に流れを持たせる。最後に、導入部分であるプラズマバブルインジェクターを電気メス用電源に接続し、電気パルスを加えることによりプラズマ及び気泡を発生させ遺伝子導入を行う。

実験条件は、HeLa 細胞 密度 7.0×10^5 個/ml, pCX-EGFP 濃度 $50 \mu\text{g/ml}$, 印加電力 10W (2.4 kV、250 mA), 印加時間 10 秒, ローター回転数 60rpm とする。遺伝子導入後 24 時間培養を行い、蛍光観察することで、細胞への遺伝子導入を確認する。

遺伝子導入後の、細胞の様子を図3に示す。明視野では露出時間 1/100 秒, 暗視野 (蛍光観察) では 2 秒とし撮影を行った。

未処理のものでは、暗視野において、蛍光は見ることができなかったが、プラズマバブルインジェクターで処理したものは 15% 程度遺伝子導入に成功したことを確認した。

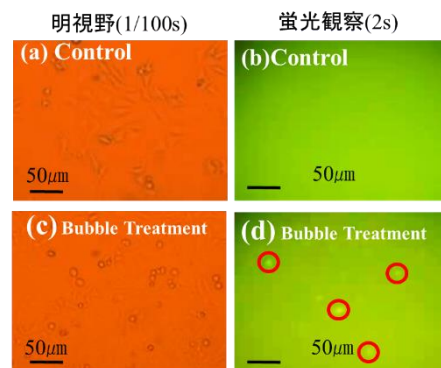


Fig. 3. Experimental results; upper two pictures are He-la cells under control condition ((a) bright field, (b) dark field), bottom two pictures are He-la cells treated by plasma-bubbles ((c) bright field, (d) dark field), respectively

REFERENCES

- [1] T. Kaneko, et al., "Improvement of cell membrane permeability using a cell-solution electrode for generating atmospheric-pressure plasma.", *Biointerphases* 10(2), 2015.
- [2] R. Matsuura, et al., "Restoration of nonfunctional human whey acidic protein (WAP) gene and analysis of its function", *The Journal of Animal Genetics* 39, pp.7- 15, 2011.