

プラズマ遺伝子導入法における細胞障害性

Cytotoxicity of plasma gene transfection

◎池田 善久¹, 木戸 祐吾^{1,2}, 本村 英樹¹, 佐藤 晋^{1,3}, 神野 雅文¹

(1. 愛媛大院理工, 2. パール工業, 3. ワイ'ズ)

◎Yoshihisa Ikeda¹, Yugo Kido^{1,4}, Hideki Motomura¹, Susumu Satoh^{1,3}, Masafumi Jinno¹

(1. Ehime Univ., 2. Pearl Kogyo Co., Ltd., 3. Y's Corp.)

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

1. はじめに

マイクロプラズマを用いた遺伝子導入は、生成した時空間的に安定なプラズマにより遺伝子導入を実現する技術である[1]。著者らは、過去プラズマ照射によるプラスミド DNA 損傷の評価をおこない、損傷がないことを確認している[2]。本研究では細胞への安全性を確認するため、LDH 法(乳酸脱水素酵素アッセイ法)による細胞障害性評価をおこなった。

2. 実験方法

96 ウェルプレートで培養した L-929(マウス結合組織の繊維芽細胞)とプラスミド DNA の懸濁液に対して、周波数 20 kHz, 印加時間 5 ms, 印加電圧 10, 15, 20, 25 kVpp の条件によるプラズマ照射をおこなう。実験は、96 Well 中でセミコンフルエント状態の細胞と、プラズマが直接照射される Well と同心円の範囲の細胞を除去した 2 種類のサンプルとし(図 1), 照射 1 時間後に LDH 法による傷害性評価をおこなう。

3. 結果と考察

細胞傷害性評価結果を図 2 に示す。15 kV 印加時で比較すると、通常サンプルにおける細胞傷害性は 38 %, Well 中心の細胞を排除したサンプルの細胞傷害性は 10%, プラズマを照射していないコントロールの細胞傷害性は 8 % となり、中心部の細胞を除去した Well での細胞傷害性はコントロールと同等であった。また、本結果における中心部除去した Well の細胞傷害性は、印加電圧に対して比例関係にないことから、プラズマ照射による傷害ではなく、その他の要因によるものと推測される。更に中心部細胞の除去により、細胞数は標準と比べて 65 % 程度に減少しているが、15 kV 印加時の細胞傷害性は、通常条件に対して 26 % 程度となっており、面積比以上に低減されている。これは細胞除去範囲がプラズマ照射範囲より大きいためと考えられる。

4. まとめ

プラズマ遺伝子導入による細胞傷害性について、LDH 法による評価を行った。結果、プラズマ直接照射により細胞傷害性が確認されたが、その細胞傷害はプラズマの直接照射に起因していることが示唆された。

謝辞

本研究の一部は、JSPS 科研費・新学術領域(25108509, 15H00896)の助成により行われた。DNA 試料は本学総合科学センター(INCS)より提供を受けた。

参考文献

- [1] 三宅 他: 第 75 回応用物理学会秋季学術講演会, 20a-S8-7 (2014)
 [2] M. Jinno et al.: *Journal of Photopolymer Science and Technology*, **27** (2014) 399.

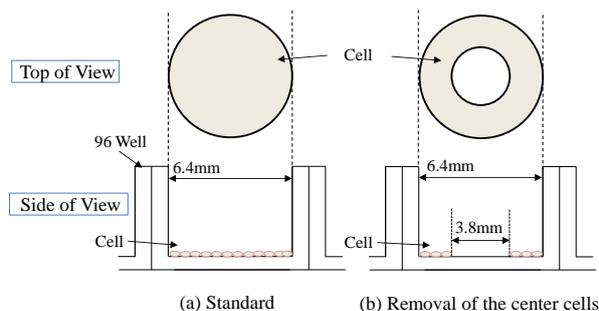


Fig.1 Distribution of cells

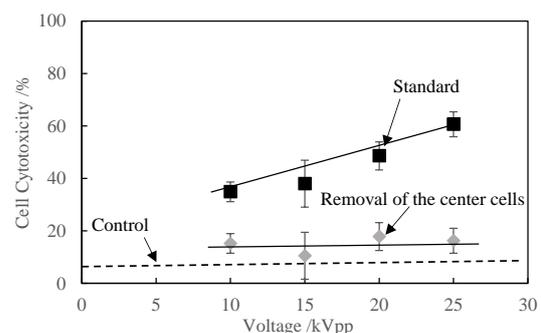


Fig.2 Cell Cytotoxicity of the plasma treated cells