

プラズマによる C3H/HeJ マウス皮膚への *in vivo* 遺伝子導入 In Vivo Gene Transfection into C3H/HeJ Mouse Skin by Plasma Irradiation

○ 江渕 拓也¹、森 貴之¹、木戸 祐吾^{1,2}、池田 善久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)

○ Takuya Ebuchi¹, Takayuki Mori¹, Yugo Kido^{1,2}, Yoshihisa Ikeda¹, Susumu Satoh^{1,3}, Masafumi Jinno¹ (1.Ehime Univ., 2.Pearl Kogyo Co., Ltd., 3.Y's Corp.)

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

1. 緒言 我々はプラズマ遺伝子導入法の開発に取り組んでおり、動物培養細胞に対し低侵襲で高効率なプラズマ遺伝子導入法を実現した [1]。それに続く課題のひとつに、プラズマ照射による動物皮膚への遺伝子導入がある。今回、C3H/HeJ マウスの皮下に注射針で DNA 溶液を注入し、アークフレア放電の照射によって皮膚組織の細胞に対し遺伝子が導入されるか確認した。

2. 実験方法 Fig.1 に実験概略図を示す。20 週齢の C3H/HeJ マウスの背中を抜毛し皮下 (筋膜組織の下) に、mCherry 発現プラスミド (3.1 MDa) を 20 μ l 注入し、アークフレア放電にて生成されたプラズマを照射した。DNA 溶液濃度は 1 μ g/ μ l とした。20 kVpp、周波数 20 kHz の正弦波電圧を電極間に印加した。この正弦波電圧を周波数 90Hz、Duty 比 40% でパルス変調し、10 秒間の照射した。フレアの先端とマウスの背中までの距離は約 15 mm とした。プラズマ照射から 48 時間後に皮膚を切り取り凍結切片を作成した後、mCherry の発現を評価するため、組織を PFA 4% で固定し、一次抗体に Rabbit polyclonal to mCherry: Abcam、Fab にした二次抗体にヒストファインシンプルス テインマウス MAX-PO(R):ニチレイを用い、ACE 液 (ACE+High Sensitivity Substrate Chromogen) により二次抗体を赤色に染色することで評価を行った。

3. 結果と考察 Fig.2 に (a) 皮下注射ありでプラズマ照射なし、(b) 皮下注射ありでプラズマ照射あり、の場合のそれぞれの切片断面の観察写真を示す。注射のみは一部赤く染まった箇所が確認されたが、この染色は導入部位とは関係なく、バックグランドと判断される。プラズマ照射を行った切片は、注射した部位とは異なり真皮の領域が赤く染まった。また真皮が染まり筋膜が染まらなかった理由は、筋膜は表皮より深い部分にあるため、プラズマの影響が弱かったためと考えられる。

4. 結論 皮下注射とプラズマ照射により生体組織に遺伝子が導入されることが明らかとなった。

謝辞 本研究の一部は、JSPS 科学研究費補助金 新学術領域研究 (25108509, 15H00896) の助成により行われた。また動物実験については、本学学術支援センター (ADRES) 動物実験部門からの技術サポートを受けた。

[1] M. Jinno *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.* 55, 07LG09 (2016)

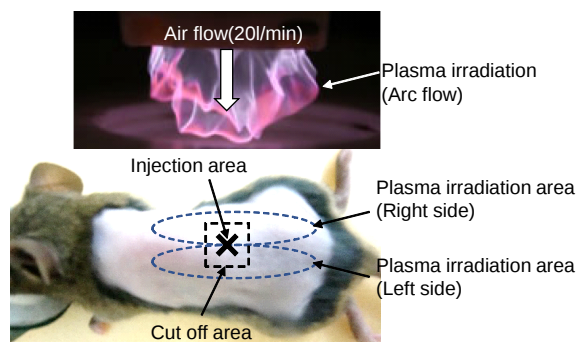


Fig. 1: Experimental setup of microplasma gene transfection system.

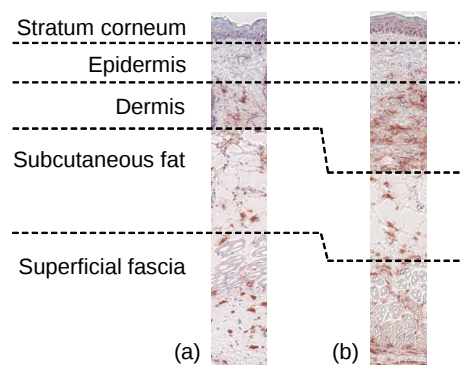


Fig. 2: Layer of skins. (a) Injection, (b) Plasma irradiation after injection