

## プラズマ照射によるタマネギ表皮細胞への蛍光色素導入 FITC Introduction into Onion Epidermal Cells by Plasma Irradiation

○ 西 雅明<sup>1</sup>、大野 雄貴<sup>1</sup>、木戸 祐吾<sup>1,2</sup>、池田 善久<sup>1</sup>、佐藤 晋<sup>1,3</sup>、神野 雅文<sup>1</sup>

(1. 愛媛大院理工、2. パール工業、3. ワイ'ズ)

○ Masaaki Nishi<sup>1</sup>, Yuki Ono<sup>1</sup>, Yugo Kido<sup>1,2</sup>, Yoshihisa Ikeda<sup>1</sup>, Susumu Satoh<sup>1,3</sup>, Masafumi Jinno<sup>1</sup>

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

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

### 1 はじめに

我々はマイクロキャピラリー電極により安定したプラズマを生成することで、動物細胞に対し低侵襲で高効率なプラズマ遺伝子導入法を確立した [1]。本研究ではプラズマ遺伝子導入法の植物細胞への適用の可能性を明らかにするため、タマネギ表皮細胞に対して蛍光色素 (FITC-Dextran: 2 MDa) の導入を試みた。

### 2 実験方法

Fig.1 に示すような 3.5 cm ディッシュに植物細胞としてタマネギ表皮細胞を 20 cm 角のアルミシートの上に設置し、FITC-Dextran 溶液を滴下、また動物細胞として MG-63 (ヒト骨肉腫由来上皮細胞) を培養した 96Well プレートに GFP 発現プラスミド DNA (pAcGFP1-N1: 3.6 MDa) 溶液を滴下し、プラズマ照射を行った。溶液濃度は FITC-Dextran は  $5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 、pAcGFP1-N1 は  $1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$  とし、滴下量はともに  $6 \mu\text{l}$  とした。周波数 20 kHz、10 から 30 kVpp の正弦波電圧を外径 70  $\mu\text{m}$  の銅電極に印加し、プラズマを生成した。照射時間は 5 から 25 ms とした。

### 3 結果と考察

Fig.2(a) に MG-63 細胞への pAcGFP1-N1 導入結果および (b) にタマネギ表皮細胞への FITC-Dextran 導入結果を示す。MG-63 ではプラズマの直接照射部位 (図中赤丸の直径 1 mm) の細胞が死滅し、その周囲で GFP の蛍光が確認された。タマネギ表皮細胞では、逆にプラズマの直接照射部位のみで FITC-Dextran の蛍光が確認された。本結果は、動物細胞で傷害の起こるプラズマ照射条件で細胞壁に何らかの変化が生じ、FITC-Dextran が導入されていると考えられる。

### 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。

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

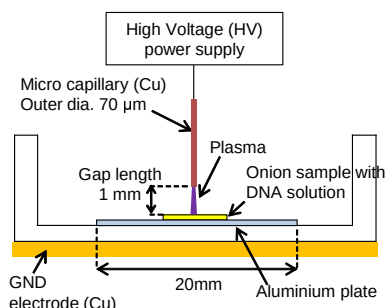


Fig. 1: Schematic of microplasma gene transfection system.

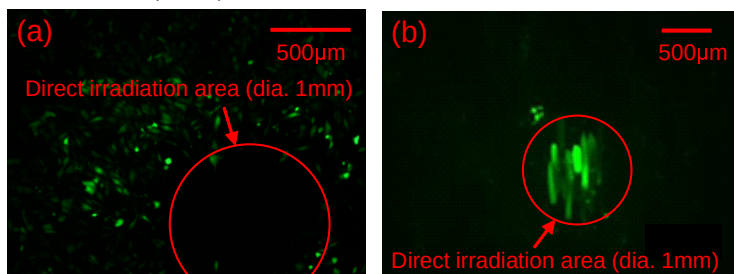


Fig. 2: Bright field images. (a) MG-63 cells with fluorescence of AcGFP, (b) Onion epidermal cells with fluorescence of FITC-dextran.