プラズマ分子導入における活性酸素種の役割の導入分子量依存性

Molecular Weight Dependence of the Reactive Oxygen Species' Contribution in Plasma Molecular Introduction

○ 池田 善久 [1]、磯崎 勇希 [1]、木戸 祐吾 [1,2]、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 Ikeda[1], Yuuki Isozaki[1], Yugo Kido[1,2], Susumu Satoh[1,3], Masafumi Jinno[1]
(1.Ehime Univ., 2.Pearl Kogyo Co., Ltd., 3.Y's Corp.)
E-mail: mjin@mayu.ee.ehime-u.ac.jp

1. 緒言 我々は低侵襲で高効率なプラズマ遺伝子導入法を確立し [1]、その機序解明に取り組んでいる [2,3]。本研究では、プラズマによる分子導入の機序の導入分子量依存性を調べるために、活性酸素種 (ROS) の寄与の導入分子量依存性を調べた。具体的には、アセチルシステイン（N-acetylcysteine : NAC）を用いて ROS の形成を阻害し、中分子である YOYO-1 と大分子であるプラスミドについて NAC 濃度による導入率の変化を測定した。

2. 実験方法 標的細胞には L-929 (マウス結合組織由来線維芽細胞) を用いた。細胞を培養した 96Well プレートに GFP 発現プラスミド DNA（pAcGFP1-N1:3630 kDa) または蛍光色素 (YOYO-1: 1.27 kDa) 溶液を滴下し、プラズマを照射した。pAcGFP1-N1 の濃度は 1 μg/μl、YOYO-1 の濃度は 20 μM/μl とし、6 μl の溶液に NAC を加えたもの滴下した。Fig.1 にプラズマ照射装置の概略図を示す。15 kVpp、周波数 20kHz の正弦波電圧を外径 70 μm の銅電極に印加し、プラズマを生成した。照射時間は 5 ms とした。プラズマ照射後 48 時間培養し、イメージングサイトメータ (Cytell: GE Healthcare) により遺伝子導入効率を評価した。

3. 結果と考察 Fig.2 に NAC 濃度と遺伝子導入効率の評価結果を示す。pAcGFP1-N1 については NAC 濃度が 1 mM 以上で導入効率が減少し、YOYO-1 については NAC 濃度に関係なく一定となった。本結果より、pAcGFP1-N1 の導入にはプラズマが生成する ROS が寄与するが、YOYO-1 は寄与しておらず、導入分子サイズにより導入機序が異なることを示している。

4. 結論 プラズマ照射による遺伝子/分子導入において、導入分子の分子量によりその導入機序が異なることが明らかになった

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。

[1] M. Jinno *et al.*,: *Jpn. J. Appl. Phys.* **55**, 07LG09 (2016)
[2] Y. Ikeda *et al.*,: *Jpn. J. Appl. Phys.* **55**, 07LG06 (2016)
[3] M. Jinno *et al.*,: *Arch. Biochem. Biophys.* **605**, 59 (2016)

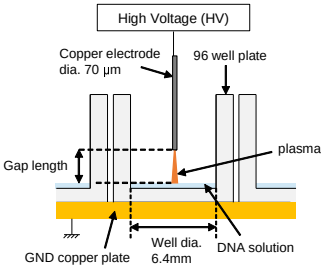

Fig. 1: Schematic of microplasma gene transfection system.

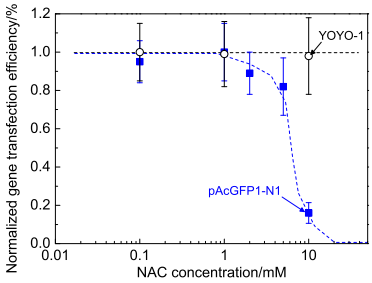

Fig. 2: NAC concentration dependence of normalized gene transfection efficiency(Normalized at 0%).