

塩化マンガンが遺伝子発現に及ぼす効果

Effect of Manganese chloride on gene expression

愛媛大院理工¹, パール工業², ワイ'ズ³ ○(株) 森貴之¹, (D)木戸 祐吾^{1,2}, 池田 善久¹,
佐藤 晋^{1,3}, 神野 雅文¹

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

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

1. 研究背景 我々は極細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]。本研究では導入および発現効率を更に向上するために、二価の金属イオンを用いた遺伝子発現に対する効果の検討を実施した。
2. 実験方法 マウス線維芽細胞 L-929 (1x10⁴細胞) を 96well プレートに播種し 24 時間培養後、培地を除き、培地中に任意の濃度で金属塩化物を添加し 1 時間培養を行なった。その後、培地を除き、1 μg/μl の GFP 発現プラスミド DNA (pAcGFP1-N1:3.6 MDa) 溶液を 6 μl 滴下し、次いで周波数 20kHz、15 kVpp の正弦波電圧を外径 70 μm の銅電極に 5msec 印加し、プラズマを照射した。
3. 結果と考察 図 1 に塩化マンガンを用いた時の L-929 細胞へ pAcGFP1-N1 遺伝子の導入結果を示す。塩化マンガン添加した場合、標準条件(STD)時と比べ GFP の蛍光が多く確認された。一般的な遺伝子導入法として 2 価の金属イオンを添加することで遺伝子の導入が促進されることは知られているが、その詳細なメカニズムについては明らかになっていない。近年、マンガンと自食作用は密接な関係があることが報告されており[2]、塩化マンガンが添加されることにより細胞の自食作用が阻害され、その結果としてプラズマ照射により細胞内に取り込まれたプラスミド DNA が安定化されることで遺伝子発現量が上昇する可能性が示唆された。今後プラズマ遺伝子導入時にエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれた分子の自食作用の関連について検討し、塩化マンガンによる遺伝子発現の上昇のメカニズムの解明を行う。

謝辞 本研究は JSPS 科研費(17H01068)の助成を受けたものです。

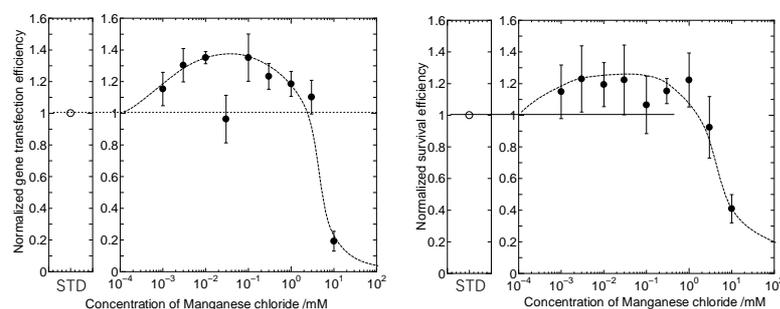


Fig.1 Effect of MnCl₂ on gene expression.

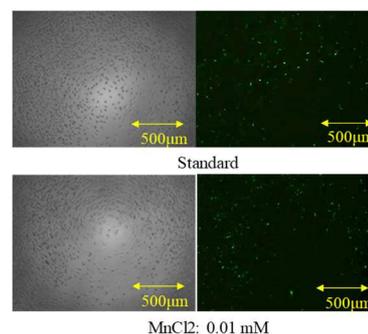


Fig.2 Fluorescent microscopy images of transfected cells.

参考論文

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

[2]J.Zhanget *al.*, "The role of autophagy dysregulation in manganese-induced dopaminergic neurodegeneration", *Neurotoxicity Research*, November, Issue 4, pp 478–490(2013).