

プラズマ遺伝子導入法における細胞種毎の最適条件への インフォマティクスのアプローチ

Informatic Approach to Find Optimum Parameters for each Kind of Cell in Plasma Gene Transfection

愛媛大院理工¹, パール工業^{1,2}, ワイズ^{1,3} °(M1) 吉武 卓哉¹, 宮本 展寛¹

(D)木戸 祐吾^{1,3}, 佐藤 晋^{1,2}, 神野 雅文¹

Ehime Univ.¹, Pearl Kogyo Co.,Ltd.², Y's Corp.³, °Takuya Yoshitake¹, Nobuhiro Miyamoto¹,

Yugo Kido^{1,2}, Susumu Satoh^{1,3}, Masafumi Jinno¹

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

1. はじめに: 我々は極細電極により安定した極小プラズマを生成し、動物細胞に作用させ低侵襲かつ高効率なマイクロプラズマ遺伝子導入法を確立した[1]。本研究は、最適なプラズマ照射条件を予測可能とするため、これまでの多種類の細胞の導入結果を解析し、今回上皮細胞での最適条件予測式の確立を目的として実施した[2]。

2. 解析方法: 扁平系細胞 (12 種)、単層立方系の上皮細胞 (6 種) の細胞群について、細胞の面積 S_c (μm^2)、細胞核の面積 S_n (μm^2)、倍加時間 D (h) などを要素として重回帰分析を行い、各細胞群の遺伝子導入条件のうちプラズマ照射時間 T (ms) についての関係式を導出した。また、細胞の長さを計測し回転体として疑似的に細胞と細胞核の体積 V_c, V_n (μm^3) を求め関係式を導出した。

3. 結果と考察: 細胞の大きさ、細胞核の大きさ、倍加時間を説明変数とした場合、以下に示すような関係式が得られた。なお、細胞の大きさ、核の大きさについては、各々10個の細胞の実測値から平均値を求めこれを使用した。

扁平系細胞 : $T = 0.047S_c - 0.15S_n + 0.22D + 11$ 誤差率 35%

単層立方上皮細胞 : $T = 9.9 \times 10^{-3}S_c - 5.8 \times 10^{-2}S_n + 0.30D + 38$ 誤差率 8.0%

さらに、各細胞と細胞核の体積 V_c, V_n を要素に加え重回帰分析を行うと以下の関係式が得られた。

扁平系細胞 : $T = 4.4 \times 10^{-3}V_c - 9.2 \times 10^{-3}V_n + 0.37D - 4.8$ 誤差率 33%

単層立方上皮細胞 : $T = 1.5 \times 10^{-3}V_c - 3.0 \times 10^{-3}V_n + 0.37D + 34$ 誤差率 2.0%

これらの結果から、プラズマ遺伝子導入法の最適値予測にかかわる要因として、細胞を立体的に見ることが重要であることが示唆された。細胞の体積が印加時間に依存していることは想像できるが、核の体積が負の値をとるということは導入条件が細胞膜と核の間の距離に依存している可能性があり、詳細な検討が今後の課題である。また、細胞のサイズなど物理的なパラメータと倍加時間という生物学的な要素が線形結合で回帰式に含まれていることは、従来から我々が提唱している、電気的要因と化学的要因によりエンドサイトーシスという生化学的作用が惹起されているというプラズマ分子導入法の機序モデルに合致している。このように、インフォマティクスのアプローチが、照射条件の最適値予測のみならずプラズマ遺伝子導入の機序解明にも有効な手段であると考えてよい。

4. 結論 プラズマ遺伝子導入法において、扁平系細胞と単層立方系の上皮細胞のそれぞれの導入条件について重回帰分析を行った結果、プラズマ照射時間の最適値の予測式を導出し、実験結果との一致具合を評価した結果、インフォマティクスのアプローチが最適条件の予測に有効であるのみならず、プラズマ遺伝子導入の機序解明の一助となりえることを明らかにした。

謝辞 本研究の一部は JSPS 科研費 (17H01068) の助成および愛媛大学リサーチユニットプログラムの支援を受け実施された。

参考文献

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

[2] T. Yoshitake et al.: *The 79th JSAP Autumn Meeting*, 19p-141-5(2018)