

# プラズマ複合刺激によるゲノムインテグレーションフリーで自発的な細胞の外部分子/遺伝子取り込みとその応用

Spontaneous and genome-integration free external molecular/gene introduction by complex stimulus generated with discharge plasma introduction and its applications

愛媛大理工<sup>1</sup>, パール工業(株)<sup>2</sup>, (株)アイジーン<sup>3</sup>

◎神野 雅文<sup>1,3</sup>, 池田 善久<sup>1</sup>, 本村英樹<sup>1</sup>, 木戸 祐吾<sup>1,2</sup>, 佐藤 晋<sup>1,3</sup>

Ehime Univ.<sup>1</sup>, Pearl Kogyo Co. Ltd.<sup>2</sup>, i-Gene Co. Ltd.<sup>3</sup>

◎Masafumi Jinno<sup>1,3</sup>, Yoshihisa Ikeda<sup>1</sup>, Hideki Motomura<sup>1</sup>, Yugo Kido<sup>1,2</sup>, Susumu Satoh<sup>1,3</sup>

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

## 1. 序論

著者らは、2002年のプラズマによる細胞への分子導入現象の発見以降、この現象の機序解明と実用化に取り組んできた。ここでは、プラズマ分子/遺伝子導入法とその機序について解明できていること、そして、動物細胞から医療や農水産分野への展開について紹介する。

## 2. プラズマによる巨大分子/遺伝子導入現象

プラスミドやデキストランなどの巨大分子を滴下したウエル内の培養細胞を直径数十 $\mu\text{m}$ の極細電極と平板銅電極で挟み込み、数十kHzの正弦波高電圧による放電プラズマを数msという短時間作用させただけで、細胞外の分子が細胞内に取り込まれる。このプラズマによる細胞内への分子輸送は主として、細胞外の分子を内部に取り込む細胞固有の機能であるエンドサイトーシスにより行われている。プラズマの持つ電気的要因とROS, RONS等のラジカルによる化学的要因の複合効果によりこの細胞の自発的な取り込み現象が惹起されており、電気的要因と化学的要因のどちらか一方が欠けても取り込みは生じないため、プラズマが刺激源として必須である。プラズマ法では細胞や導入分子への障害性は非常に低いが、これは、細胞

の自発的な取り込み機能にトリガをかけているだけであり、細胞膜に大きな穴を空けたり、分子を無理矢理押し込むような現象は生じていないためであると考えられる。エレクトロポレーション法やリポフェクション法での遺伝子導入時は、細胞内の染色体に遺伝子へのランダムにインテグレーション(ゲノムインテグレーション)が生じる確率が非常に高いが、プラズマ法ではゲノムインテグレーションはほとんど生じない。そのため、プラズマ法では継代を繰り返すと外部から導入した分子・遺伝子は最終的には消滅してしまうという従来法に無い特徴を有しており、医療や農水産分野の育種などに用いやすい手法として期待できる。

## 3. 大量一括処理と医療農水産分野への応用

プラズマ法はこれまでに60種類を超える動物細胞に対しての導入実績を積んできているが、最近、沿面放電の利用技術も開発し大面積大量処理や、プライマリー細胞、植物細胞や魚卵、成魚への分子導入にも成功しており(図1が植物細胞、図2がスマ魚卵への導入例)、ゲノム編集を安全に行うためのツールとして期待している。

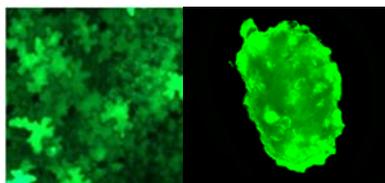


Fig.1 Fluorescent images of Schematics of FITC-dextran introduced tobacco cells (Left: Leaf, Right: Callus)



Fig. 2 Fluorescent images and bright image of FITC-Dextran introduced Suma-fish egg(left) and hatched fry(right)

謝辞 本研究の一部はJSPS科研費 (19KT0035, 17H01068, 15H00896, 25108509)、公益財団法人JKA 小型自動車等機械振興事業の助成を受け実施された。