

高効率遺伝子導入に向けた細胞膜上の大気圧プラズマ誘起微細孔の評価

Evaluation of plasma-induced micropores on cell membrane for effective gene transfection

名城大¹, °北崎 竜也¹, 熊谷 慎也¹

Meijo Univ.¹, °Tatsuya Kitazaki¹, Shinya Kumagai¹

E-mail: skumagai@meijo-u.ac.jp

【はじめに】非熱平衡大気圧プラズマは生物学や医療の分野への応用に向けて活発に研究されている。その一例として、遺伝子導入がある。非熱平衡大気圧プラズマを細胞に照射することで、高効率で遺伝子を導入できることが報告されているが[1, 2]、その導入機序には不明な点が多い。本研究では導入機序の解明に向けて、プラズマを照射した際に細胞膜に形成される微細孔の評価を行った。分子量の異なる2種類の蛍光試薬の導入率を評価し、細胞膜に形成される微細孔の大きさとその微細孔が細胞膜上に保持される時間の評価を行なったので報告する。

【実験】マウス線維芽細胞 L929 を培養し、非熱平衡大気圧プラズマジェットを照射した。プラズマ照射後に所定の時間インキュベートし、蛍光試薬を導入した。その後、細胞をさらに1時間インキュベートし、蛍光顕微鏡観察を行なって蛍光試薬の導入率を測定した。蛍光試薬として分子量の異なる DiYO-1(1271 Da)と DAPI(350 Da)を使用した。

【結果および考察】プラズマ照射から蛍光試薬導入までの時間が経過するにつれて、蛍光を発する細胞数が減少した(Fig. 1)。DiYO-1 では16時間で導入率が減少し始め、39時間で導入率はほぼ0になった。一方、DAPIはプラズマ照射から48時間で導入率が下がり始め、56時間で導入率はほぼ0になった。導入率が下がり始めてからほぼ0になるまでの時間が違うことから、細胞内への蛍光試薬導入は、分子量だけでなく立体構造の影響を受けると考えられる。

【謝辞】本研究は、科研費(19H04457, 18K19942)、内藤科学技術振興財団、上原記念生命科学財団の支援を受けた。ここに感謝の意を示す。

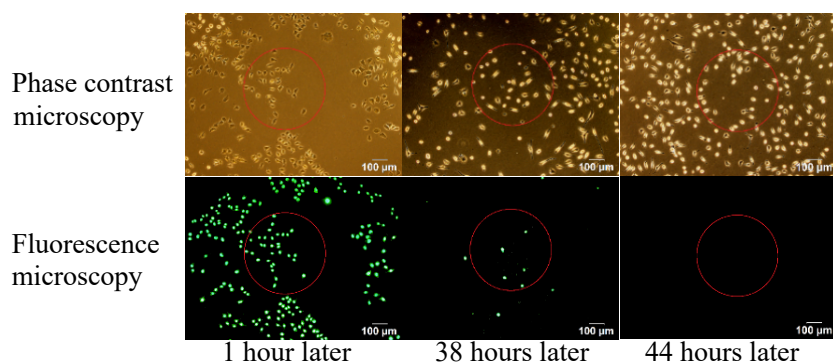


Fig. 1 Images of L929 cells observed by phase contrast and fluorescence microscopies.

【参考文献】

- [1] Ogawa et al., Biotechnol. Bioeng. **92**, (2005), pp. 865-870.
- [2] H.Tatsuya et al., Jpn. J. Appl. Phys. **58**, (2019), SEE05 (6 pages)