プラズマによる細胞への巨大分子導入時のエンドサイトーシスの役割

The role of endocytosis in huge molecule transfer into cell with discharge plasma

愛媛大院理工 [1]，（株）アイジーン [2]，パール工業（株）[3]

（M1）高木 祐輝 [1]，佐藤 晋 [1,2]，木戸 祐吾 [3]，神野 雅文 [1,2]

Ehime Univ. [1], i-Gene Co. Ltd.[2], Pearl Kogyo Co. Ltd.[3]

○Yuki Takagi[1], Susumu Satoh[1,2], Yugo Kido[3], Masafumi Jinno[1,2]

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

はじめに プラズマ遺伝子導入法は標的細胞や導入する遺伝子に対して低侵襲な技術である。この技術の医療への実用化のためには導入機序の解明が必要である。そこで本研究では機序解明の一環として、エンドサイトーシス促進剤を用いてプラズマ遺伝子導入法におけるエンドサイトーシスの重要性を明確化した。

実験方法 標的細胞は L-929（C3H 系マウス由来の皮下繊維細胞）を用いた。またエンドサイトーシス促進剤として、オカダ酸を用いた。96well プレートに播種した細胞に任意の濃度のオカダ酸を 100μl ずつ加え、CO_2 インキュベーターで 60 分間培養する。培地を吸引除去後 1 μg/μl の pAcGFP1-N1 プラスミド溶液を 4μl 滴下した。プラズマ照射後、24 時間培養し観察を行った。

結果と考察 プラズマ照射から 24 時間後の細胞の蛍光観察結果を Figure.1 に示す。またオカダ酸の濃度に対する生存細胞中の導入効率を Figure.2 に示す。Figure.1 の(a)、(b)より、オカダ酸による細胞の活性によりエンドサイトーシスが促進されたことで、(a)よりも(b)の蛍光が強く見られたと考える。また Figure.2 からも濃度が 50nM の時導入効率が増加する傾向があることが確認された。Figure.1 の(c)、(d)より、オカダ酸を投与するだけでは十分な遺伝子導入が確認されなかった。これよりプラズマ由来の因子が遺伝子導入に重要な役割を果たしていることが考えられる。

まとめ エンドサイトーシスを惹起するだけでは遺伝子導入は起こらず、プラズマによる導入因子が遺伝子導入の引き金となっていることが明確になった。

謝辞 本研究の一部は、JSPS 科研費 (17H01068, 15H00896, 25108509)、愛媛大学リサーチユニットの支援を受け実施された。

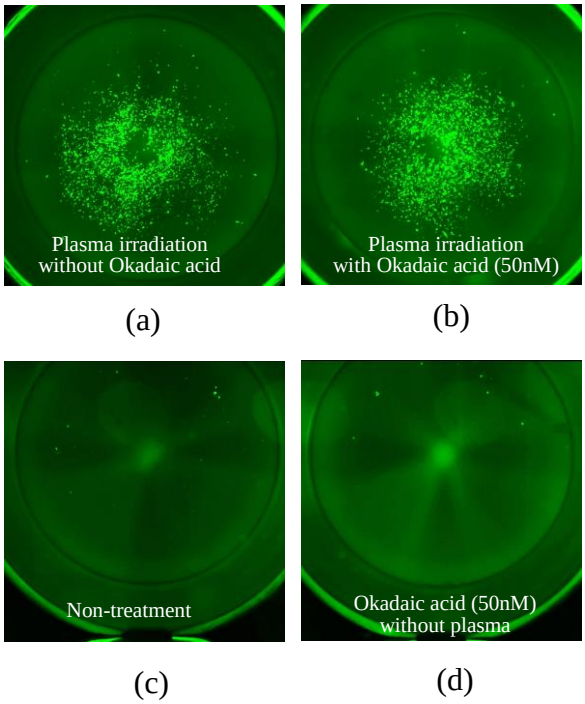

Figure.1 Fluorescent microscopy image of the GFP plasmid transfected L-929 cells.

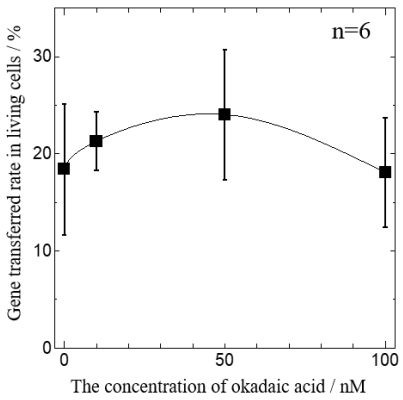

Figure.2 Relation between the concentration of Okadaic acid and Gene transferred rate in living cells.