

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による外部分子/遺伝子取り込みと農水産分野への応用

Spontaneous and genome-integration free external molecular/gene introduction by complex stimulus generated by plasm and its agriculture and fisheries applications introduction

愛媛大理工¹, パール工業², ワイズ³

○神野 雅文¹, 池田 善久¹, 本村英樹¹, 木戸 祐吾^{1,2}, 佐藤 晋^{1,3}

Ehime Univ.¹, Pearl Kogyo Co. Ltd.², Y's Corp.³

○Masafumi Jinno¹, Yoshihisa Ikeda¹, Hideki Motomura¹, Yugo Kido^{1,2}, Susumu Satoh^{1,3}

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 μm 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。プラズマの持つ電氣的要因とROS, RONS等のラジカルによる化学的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、電氣的要因と化学的的要因のどちらか一方が欠けて

も取り込みは生じない。プラズマ法では、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るため、細胞への障害性は非常に低い。エレクトロブ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がランダムにインテグレーションされる(ゲノムインテグレーション)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、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ため、医療や農水分野の育種などに用いやすい手法であると言える。

3. 大量一括処理と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処理や、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。

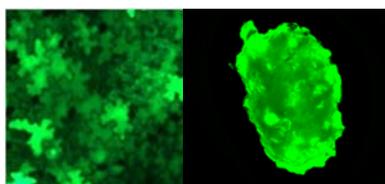


Fig.1 Fluorescent images of Schematics of FITC-dextran introduced tobacco cells (Left: Leaf, Right: Callus)

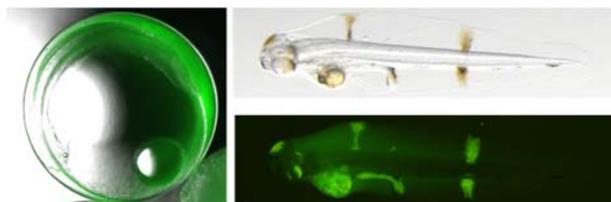


Fig. 2 Fluorescent images and bright image of FITC-Dextran introduced Suma-fish egg(left) and hatched fry(right)

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。