

# 沿面放電型遺伝子導入法の電氣的、化学的要因分布の可視化と 遺伝子導入範囲との相関性

## Visualization of the Distribution of Electrical and Chemical Factors in the Surface

### Discharge Gene Transfection Method and Correlation of Gene Transfection Area

愛媛大学<sup>1</sup>, パール工業<sup>2</sup>, アイジーン<sup>3</sup> ◯(M1)黒木 悠汰<sup>1</sup>, 木戸 祐吾<sup>2</sup>,

佐藤 晋<sup>1,3</sup>, 神野 雅文<sup>1,3</sup>

Ehime Univ.<sup>1</sup>, ◯Yuta Kuroki<sup>1</sup>, Yugo kido<sup>1,2</sup>, Sususmu Satoh<sup>1,3</sup>, Masafumi Jinno<sup>1,3</sup>

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

#### 1. 序論

著者らはプラズマ遺伝子導入法の細胞への遺伝子導入範囲の拡大を目的として、沿面放電を用いた研究を行っている。過去の研究成果より導入の80%がエンドサイトーシスによるものであることが明らかになった[1]。さらに分子量が10000 bpまでの標的分子の場合、トランスフェクション効率は標的分子と細胞の衝突頻度に比例することが明らかになった[1]。沿面放電法により従来のマイクロプラズマ法と比べて導入範囲の拡大に成功した。本研究では沿面放電が生成する活性酸素種(ROS)の濃度分布をヨウ素デンプン反応により、また電流・電荷の影響範囲を明らかにするため、Dust Figure法により残留電荷の可視化を行い、導入範囲と比較を行ったので報告する。

#### 2. 実験方法

沿面放電法の概略図を図1に示す。ヨウ素デンプン反応による活性種分布の観察は、ヨウ化カリウムとアガーを混ぜた水溶液を3.5 cm dishに滴下し、水溶液が固まった後にPBS溶液を滴下した。その後4.5 kVp-pの半波整流電圧を印加して沿面放電を発生させ、サンプルを15 ms処理した後呈色反応の有無を観察した。Dust Figure法では乾燥したディッシュ表面を沿面放電で45 ms処理した後、現像粉として光明丹と松脂を混ぜたもの[2]を散布し、顕微鏡で観察した。

#### 3. 結果と考察

ヨウ素デンプン反応の結果を図2、Dust Figure法の結果を図3、蛍光観察結果を図4に示す。図2よりアノード(GND)側電極周辺のROS生成量が多いことが確認された。また図3よりアノード側の放電の進展による残留電荷が確認された。図4のGFP発現した細胞は、アノード側とカソード側でほぼ対称に分布しており、ROSおよび残留電荷の分布と一致していない。一方でアノード電極間の放電が進展していない領域ではGFPは発現しておらず、傾向が一致している箇所も存在していることを確認した。以上の結果より、今回可視化出来たROSや電荷の分布濃度および量よりも低い量で、遺伝子導入のための細胞刺激のしきい値を超えている可能性があり、今後はROSおよび電荷の定量化を行う。

#### 4. まとめ

ヨウ素デンプン反応とDust Figure法による遺伝子導入要因の分布の可視化を行った結果、ROSおよび電流・電荷の影響範囲と遺伝子発現範囲の直接的な相関は確認出来なかった。よって今回可視化した量よりも低い量で遺伝子導入のための細胞刺激のしきい値を超えている可能性が示唆された。

謝辞 本研究はJSPS科研費17H01068、21H04455の助成を受けたものです。

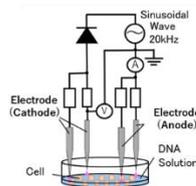


Fig.1 Schematic diagram of the surface discharge method.

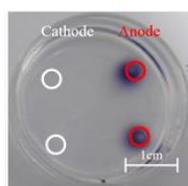


Fig.2 Observed result of iodine-starch reaction.

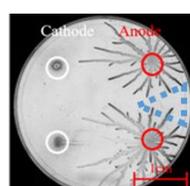


Fig.3 Observation result of residual charge by dust figure method.

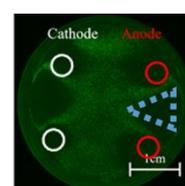


Fig.4 Observation of gene expression by surface discharge method.

[1] Tatsuya Hiramatsu *et al* *Jpn. J. Appl. Phys.* **58** SEEG05(2019)

[2] 長田、池尻, 「衝撃波電圧とそのDust Figureの特性(第一報: 全波波形について)」, 福井大学工学部研究報告, 第6巻, 第1.2号, pp.1-11 (1957).