

プラズマ遺伝子導入法における細胞周期依存性

Cell Cycle Dependence in Plasma Gene Transfection

愛媛大院理工¹, (株)アイジーン², パール工業(株)³

(M2)高木 祐輝¹, (M1)村上 卓 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 Takagi¹, Susumu Satoh^{1,2}, Yugo Kido³, Masafumi Jinno^{1,2}

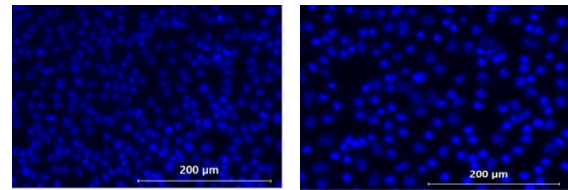
E-mail: mjin@mayu.ee.ehime-u.ac.jp

1. はじめに 著者らはプラズマ遺伝子導入法の導入機序にエンドサイトーシスが大きく関わっていることを明らかにしている[1]。エンドサイトーシスは細胞周期の中でも M 期に起こることが知られている。そこで本研究では試薬を用いて細胞の M 期同調を行い、エンドサイトーシスの増加と導入効率向上への効果を検証した。

2. 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。M 期同調試薬として、Nocodazole を用いた。96well プレートに播種した細胞に任意の濃度の Nocodazole 加え、CO₂ インキュベーターで 24 時間培養した。培地を吸引除去後 1 µg/µl の pAcGFP1-N1 プラスミド溶液を 3 µl 滴下した。プラズマ処理後、32 時間培養した後、蛍光観察を行い GFP 発現量の比較を行った。

3. 結果と考察 図 1 に M 期同調時の細胞の核染色後の蛍光観察結果を示す。また図 2 にプラズマ処理後 32 時間の細胞の GFP 発現について蛍光観察結果を示す。図 3 に時間経過に対する生存細胞中の導入効率を示す。図 1 より、24 時間後の 1 細胞あたりの蛍光強度が強くなっており、相対的な染色体数の増加によると考える。図 2、図 3 より Nocodazole 処理により GFP の蛍光強度が増加しており、導入効率の向を確認した。これは M 期同調された多くの細胞がエンドサイトーシスを再開し、導入量が増加したためであると考えられる。

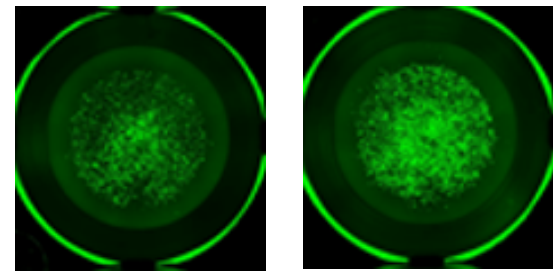
4. まとめ 細胞を M 期同調させることで、エンドサイトーシスが増加した結果、プラズマ遺伝子導入の導入効率が上昇した。



(a) Standard

(b) Nocodazole

Fig. 1 Fluorescence image of nuclear staining using Hoechst.



(a) Standard

(b) Nocodazole

Fig.2 Fluorescent microscopy image of the GFP plasmid transfected L-929 cells.

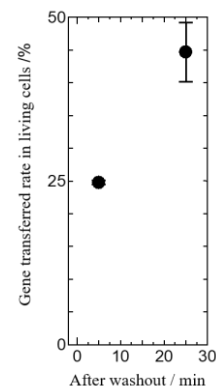


Fig.3 Gene transferred rate.

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。

参考文献 [1]M. Jinno et al., Plasma Sources Sci. Technol. 26 065016(2017)