液相中プラズマを活用した遺伝子導入法開発に関する研究

Study on Gene Transfer Method Using In-Liquid Plasma

東北大院工 [1]，東北大院医工 [2]，東北大流体研 [3]

○本田 竜介 [1]，佐々木 渉太 [1]，髙島 圭介 [1]，神崎 展 [2]，佐藤 岳彦 [3]，金子 俊郎 [1]

Grad. Sch. of Eng., Tohoku Univ. [1], Grad. Sch. of Biomed. Eng., Tohoku Univ. [2], Inst. of Fluid Sci., Tohoku Univ. [3]

°Ryosuke Honda[1], Shota Sasaki[1], Keisuke Takashima[1], Makoto Kanzaki[2], Takehiko Sato[3], and Toshiro Kaneko[1]

E-mail: ryosuke.honda.t7@dc.tohoku.ac.jp

遺伝子や薬剤分子などの細胞外分子を生細胞内に導入する分子導入技術は iPS 細胞作製や低侵襲がん治療といった要請から近年重要性が高まっている．これに対し様々な導入技術が開発・実用化されてきたが，細胞生存率や安全性，適用細胞種の制限といった克服の難しい課題を抱えている現状があり，新規導入手法の開発が求められている．

近年，新規分子導入法として大気圧プラズマの利用が報告され[1,2]，注目を集めている．その一方で組織液や培養液といった液相環境中にある生体臓器や培養細胞への導入処理には，外部ガス供給無く，液相中で直接プラズマ照射処理することが望ましい．筆者らはこれまでに液相中で微小なプラズマを生成し(液相中プラズマ)，細胞に照射することで細胞内への薬剤模擬分子(カチオン性，分子量 1300 程度)導入が誘起されることを報告してきた[3]．また分子導入の作用機序として，温度依存的な細胞活動の関与や，プラズマ照射に伴い生成される様々な刺激(衝撃波や電場，活性種)の関与の可能性を報告してきた．一方で，薬剤模擬分子よりも導入が困難とされる遺伝子の導入可能性については，未だ詳細には調べられていない．そこで今回，液相中プラズマを活用した培養細胞への遺伝子導入を試みたので報告を行う．

実験では，先端曲率半径を制御した同軸電極に対し，自作電源を使用してパルス電圧を印加し，液相中プラズマの生成を行った．細胞にはヒト乳がん細胞(MCF-7)を使用し，緑色蛍光タンパク質(GFP)をコードしたプラスミド DNA を導入物質として用いた．プラスミド含有細胞培養液で周りを満たした細胞に対して液相中プラズマの照射を行い，処理 24~48h 後の細胞の GFP 蛍光を観察しプラスミド DNA 導入を評価した．図 1 に処理 24h 後の細胞の明視野図および蛍光図を示す．未処理と比べプラズマ照射処理を行った細胞で GFP 蛍光が観察されたため，液相中プラズマ照射処理には，遺伝子導入効果を有することが明らかとなった．

講演ではプラスミド DNA の高品質導入条件の探索結果や処理後の細胞応答についても報告を行う．

[1] S. Sasaki, Y. Zheng, T. Mokudai, H. Kanetaka, M. Tachikawa, M. Kanzaki, and T. Kaneko, Plasma Process. Polym. **17**, e1900257 (2020).

[2] M. Jinno, Y. Ikeda, H. Motomura, Y. Isozaki, et al., Plasma Sources Sci. Technol. **26**, 065016 (2017).

[3] R. Honda, S. Sasaki, K. Takashima, M. Kanzaki, T. Sato, and T. Kaneko, Jpn. J. Appl. Phys. **59**, 040904 (2020).

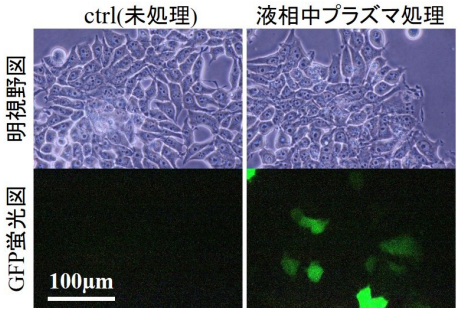

図 1．処理 24h 後の MCF-7 細胞写真．