

プラズマ遺伝子導入に作用する電氣的要因の回路網解析

Circuit Network Analysis of Electrical Factors Working to Plasma Gene Transfection

愛媛大院理工¹, パール工業 (株)², (株) ワイ'ズ³

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

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

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

E-mail: motomura.hideki.mx@ehime-u.ac.jp

著者らは高効率で低侵襲、かつ安全な遺伝子導入法として、微小放電プラズマを用いたプラズマ遺伝子導入法を開発している。この技術では放電プラズマ処理によって、電流や電界といった電氣的要因と、ラジカルを中心とした活性種などの化学的要因が細胞に供給され、これらが複合的に作用して導入が実現される。本稿では電氣的要因に着目し、電界と電流のどちらが細胞に作用する主要因であるかを特定するために回路網解析を行った。

細胞膜をコンデンサ、細胞質を抵抗として細胞をモデル化し、電気回路解析する例は良く知られている[1]。本稿では 96 ウェルプレート上に接着培養された複数の細胞をまとめて、抵抗とコンデンサを含む等価回路として表し、かつ 96 ウェルプレート (コンデンサ) や緩衝液 (抵抗) も含め、系全体を 1 つの等価回路網としてとらえ、系の電圧・電流の空間分布を電気回路網により解析した。

実験では、マウス由来線維芽細胞 (L-929) を 96 ウェルプレート上にコンフルエントになるように接着培養し、プラズマ照射前に培地を 6 μL の TE/PBS 緩衝液で置き換えた。96 ウェルプレートを接地電極板の上に置き、ウェル中心の液面上 1 mm の位置に配置した極細電極に 15 kVpp, 20 kHz の正弦波電圧を 5 ms 印加してプラズマ照射した。緩衝液にはプラスミド (pAcGFP1-N1) が 6 μg 含まれており、プラズマ遺伝子導入により発現する緑色蛍光を 24 時間培養後に観察して導入率を算出した。

計算ではウェル内の現象を軸対称と仮定し、径方向に 16 分割 (1 ユニットで $\Delta r = 0.2 \text{ mm}$) して等価回路を設計した。図 1 に 16 分割した内の 1 ユニット分の等価回路を示す。これを 16 個縦続接続し、定常状態における電圧・電流分布を LTspice により求めた。プラズマは完全導体と仮定し、正弦波電圧源をウェルの中心の緩衝液に接続した。

細胞を通過する電流から電流密度を求め、径方向分布をプロットすると、遺伝子導入効率分布と形状が良く一致しており、導入過程への電氣的要因の寄与が示された。また細胞 1 個当たりでみると、細胞膜に印加される電圧は通常時の活動電位と同程度 (0.1 V 前後) であるのに対し、細胞を通過する電流は膜輸送時の電流よりも 2 桁程度大きい値 (10–100 nA) となっており、電氣的要因として、電界よりも電流の寄与が支配的であることが示唆された。

本研究の一部は科研費補助金 (19KT0035, 17H01068, 1500896, 25108509) および JKA 研究補助事業の助成を受けて行われた。

[1] N. Nomura, M. Yano, S. Katsuki, H. Akiyama, K. Abe, S-I. Abe, IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insulat., **16**, 1288 (2009)

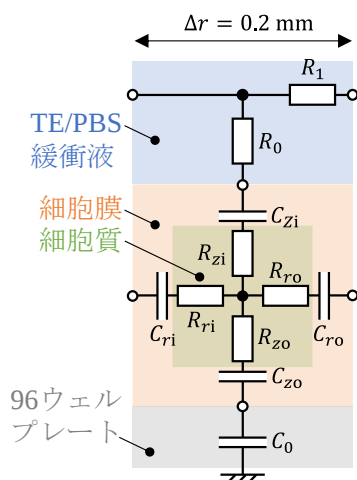


図 1: 等価回路 (径方向 16 分割の内の 1 ユニット分)