

多連電極を用いたマイクロプラズマ遺伝子導入用多ウェル同時処理システム

Micro plasma gene transfer method with multi-electrodes for multi-wells treatment

愛媛大院理工¹, パール工業², アイジーン³

°(M2)秋山将摩¹, 木戸祐吾², 池田善久¹, 佐藤 晋^{1,3}, 神野 雅文^{1,3}

Ehime Univ.¹, Pearl-Kogyo Co. Ltd., i-Gene Corp.^{2,3} °Shoma Akiyama¹, Yugo Kido^{1,2}, Yoshihisa

Ikeda¹, Susumu Satoh^{1,3}, Masafumi Jinno^{1,3}

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

1. 序論

我々は安定したマイクロプラズマを生成する極微細電極を用い、低侵襲で高効率な遺伝子導入を実現した[1]。本研究では、複数の電極を並列に接続した多連電極によって1度に複数のウェルの処理が可能なマイクロプラズマ照射方式を確立したので報告する。

2. 実験方法

マウス胎児皮膚線維芽細胞L-929を培養した 96ウェルプレートに AcGFP 発現プラスミド DNA (pAcGFP-N1)を滴下し、10本の電極を並列に接続した10連電極を用いて同時に10ウェルへプラズマ処理を行った。印加電圧を 15 から 30 kVpp(周波数 20kHz)、照射時間を 0.5 から 5 msec、バラスト容量値を7.5 pF、15 pF、47pF としてそれぞれプラズマ処理を行い、プラズマ処理後 24 時間培養し、導入・発現したGFPの蛍光を蛍光顕微鏡により観察した。

3. 結果と考察

10連電極による導入の結果をFig.1に示す。プラズマ処理条件として印加電圧25kV、印加時間3msec、バラスト容量47pFにてそれぞれ最も高い導入効率を示し、10連電極を用いての10ウェルの同時処理において30~40%程度の導入効率で遺伝子導入が可能であると明らかになった。バラスト容量と導入効率の関係をFig.2に示す。バラスト容量値が導入効率に大きく影響を与えたが、単純にバラスト容量に比例して導入効率が増加しておらず、下に凸のカーブとなっている。この結果より、1回の放電でコンデンサからウェルへ供給される電荷量の大小とコンデンサの充放電周期の長短のバランスにより細胞への刺激が変化し導入効率が影響を受けていると推測される。

4. まとめ

10連電極を用いた複数wellのプラズマ処理において、単一電極の場合と同様に10ウェルを同時に30~40%の導入効率にて遺伝子導入が可能であることが明らかになった。

謝辞

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

参考文献

[1] Masafumi Jinno *et al.*, *Japanese Journal of Applied Physics* 55 , 07LG09 (2016)

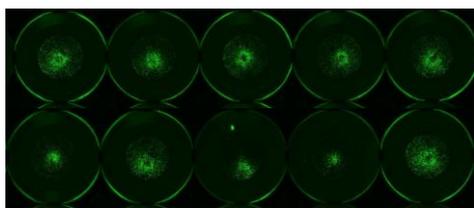


Fig.1 Fluorescence Images by 10 electrodes

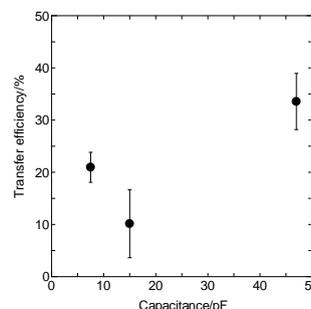


Fig.2 Relation between capacitance and transfer efficiency