

パルス放電による遺伝子導入

Gene transfection by pulse discharge

愛媛大学¹, アイジーン² ○(M2) 竹本 直輝¹, (B4) 川崎 寛人¹, 池田 善久¹, 佐藤 晋^{1,2},
神野 雅文^{1,2}

Ehime Univ.¹, i-Gene Corp.² ○Naoki Takemoto¹, Hiroto Kawasaki¹, Yoshihisa Ikeda¹,

Susumu Satoh^{1,2}, Masafumi Jinno^{1,2}

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

1. 序論

著者らは、動物細胞に遺伝子を導入する技術として、マイクロプラズマ法の研究を行っており、導入機序に電流の寄与が大きいことを報告している[1] [2]。正弦波の場合、放電電流が流れる時間が長いと電流値を大きくすると細胞が死滅してしまう。本研究では短時間で大きな電流刺激による導入の可能性を確認するため、パルス放電を用いて遺伝子導入評価を行い、正弦波との比較を行った。

2. 実験方法

96ウェルプレートに播種したL-929細胞に対し、培地除去後にプラスミド溶液(1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$)を滴下し、GNDに接地された銅板電極上に静置した。液面から0.5 mmの位置にある針電極に、パルス幅100 μs 、周波数2 kHzパルス電圧を最大1250周期印加し、プラズマ処理を行った。処理後に培地を加え、24時間培養した後、蛍光観察を行い、生存率・導入効率を評価した。プラスミドはAcGFPを発現するpAC-GFP-N1を用いた。

3. 結果と考察

パルスと正弦波の印加電圧・電流波形を図1に、蛍光観察の結果を図2に示す。パルス電圧でプラズマ処理を行ったサンプルでは緑色蛍光を発していることから導入が確認でき、パルス電圧印加によりマイクロプラズマ法と同等以上に遺伝子導入が可能であることが明らかになった。パルス放電はピーク電流が正弦波に比べ大きく、短時間しか流れないことや周波数成分が大きく細胞質に対して効果的に電力注入が出来たためと考えられる。

4. まとめ

パルス電圧を用いてプラズマを発生させて遺伝子導入を試みた。その結果、マイクロプラズマ法と同等以上の遺伝子導入が確認できた。

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] M Jinno *et al.*, *Plasma Sources Science and Technology*, **26** (6), 065016 (2017)

[2] Y Kido *et al.*, *PLoS ONE*, **16**, 0245654 (2021)

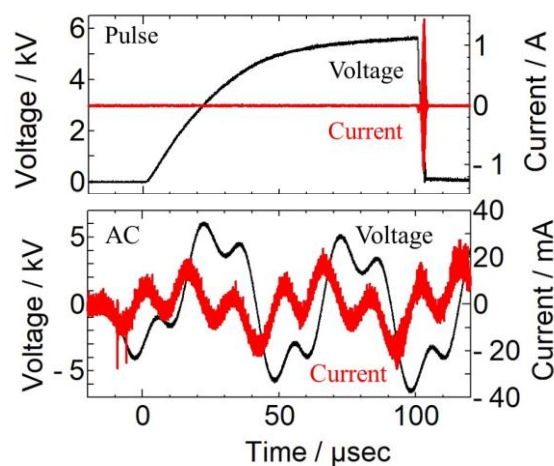


Fig.1 Voltage / Current Waveform.

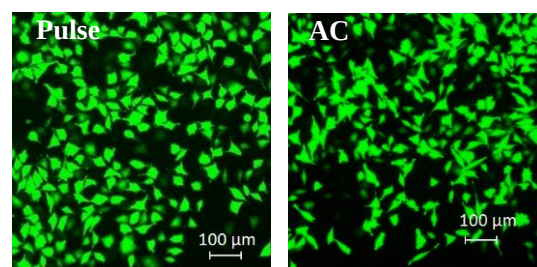


Fig.2 Fluorescent microscopy images of the AcGFP plasmid-transfected L-929 cells.