



液中プラズマ・パルス電場複合法による細胞内高効率遺伝子導入

Highly Efficient Gene Transfer in Cells

by Combined Plasma and Pulsed Electric Field Treatment in Liquid

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, 高島 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 Honda¹, Shota Sasaki¹, Keisuke Takashima¹, Makoto Kanzaki², Takehiko Sato³, and Toshiro Kaneko¹

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医療分野を始めとした幅広い分野で重要性が高まっている。これまでに様々な導入技術が開発されてきたが、細胞生存率や安全性、適用細胞種の制限といった課題が指摘されており、新規導入手法の開発が求められている現状がある。

筆者らはこれまでに液中で微小なプラズマを生成し（液中プラズマ）、細胞に照射することで生細胞内へ薬剤模擬分子（カチオン性、分子量 1300 程度）やプラスミド遺伝子（アニオン性、分子量 300 万程度）が導入されることを明らかにしている [1]。今回、液中プラズマにパルス電場処理を組み合わせた手法による培養細胞への遺伝子導入の高効率化を試みたので報告する。

実験では高電圧パルス（パルス幅 = 100 μ s, 周波数 = 1 Hz）を細胞培養液中の針状高電圧電極に印加し液中プラズマ生成を行った。また液中プラズマとは独立して、パルス電場（パルス幅 < 10 μ s, 周波数 ~ 1 kHz）を印加する処理も行った。細胞にはヒト乳がん細胞（MCF-7; 接着系細胞）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（pDNA）を導入物質として用いた。pDNA 含有細胞培養液で満たした細胞に対して液中プラズマ、パルス電場処理を行い、24h 後の細胞の GFP 蛍光を、フローサイトメトリーにて測定し、pDNA 導入効率を評価した。図 1 に処理 24h 後の各処理での pDNA 導入効率を示す。未処理と比べ、プラズマ処理、パルス電場処理によって導入効率の向上が見られた。さらに、これら処理の複合で単体処理の結果を上回る導入効率を得られたため、高効率導入達成には複合処理が有効であることが示唆された。講演では処理後の細胞応答や導入機序に関する考察についても報告を行う。

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

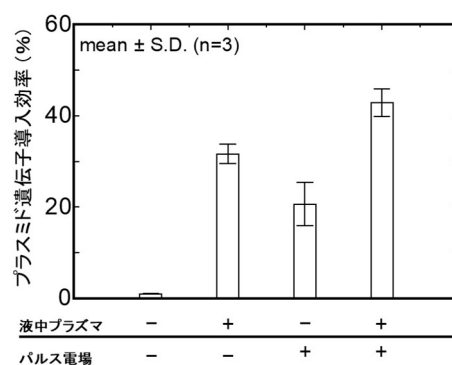


図 1. 各処理での pDNA 導入効率.