

【目的】 遺伝子導入により細胞機能をコントロールすることは医療において強力な手法となりつつあり、世界各国で導入方法の開発が進められている。例えば、患者の細胞を元に、山中 4 因子を導入して iPS 細胞を樹立し再生医療に用いるには、複数の細胞株の中から質の良い細胞株を選択することが必須である。これは砂場の中から金の粒を探す作業に等しく、時間的・経費的に非効率である。導入された 4 因子の量に依存して iPS 細胞の質が影響を受ける為、高効率で定量的な遺伝子導入が実現できれば、最初から高効率で質の良いクローンを作り出せる可能性が高く、クローン化さえ必要なくなることも考えられる。しかし、この要求を満たす遺伝子導入方法はいまだに確立されていない。近年工学研究者により、新たな遺伝子導入手法として、物質の第 4 状態であるプラズマを用いることが提案された。プラズマとは電離気体のことであり、荷電粒子・ラジカル・フォトンといった活性種を含んでいる。これらの活性種に起因するプラズマの効果によって、細胞内部への物質導入が促進されると考えられている。この手法の可能性を切り拓くため、本研究では、マイクロ電気機械システム技術 (Micro ElectroMechanical Systems、MEMS) 技術を用いてプラズマ照射型遺伝子導入システムを作製し、高効率に遺伝子導入する手法の開発を行った。

【方法】 複数の細胞への遺伝子導入を行うため、アレイ型プラズマ照射遺伝子導入マイクロシステムを開発した。本システムを、細胞を培養するマイクロウェルデバイスと、遺伝子導入促進のための平面型プラズマ源とを組み合わせ構成した。マイクロウェルデバイスでは、プラズマ照射部に細胞が誘導されるように、ウェルの側壁部分に勾配を持たせた。大気圧プラズマ照射による細胞内への物質導入過程の解析を迅速に行うため、マウス線維芽細胞 L929 に対してプラズマを照射し、蛍光色素 DiYO-1 を導入して、その蛍光強度から導入効率を評価することとした。

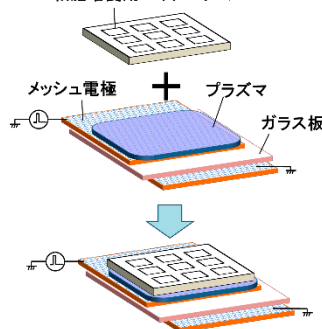
【結果】 マイクロウェルに細胞を播種して培養し、プラズマ照射を行って、蛍光色素の導入を行った。位相差顕微鏡および蛍光顕微鏡を用いて観察したところ、プラズマ照射によって細胞内への物質導入が促進された。この蛍光色素導入は、デバイスチップの中に含まれるアレイに並べられた各マイクロウェルで同時に実現できた。今後、共同研究者と協力し、本研究で開発したマイクロデバイスを用いて、ヒト人工多能性幹細胞 (hiPSC) への応用など、関連分野を大きく発展させることを考えている。

プラズマ照射型マイクロ遺伝子導入システム

・構造

1. アレイ型細胞培養
マイクロウェルデバイス

細胞培養用マイクロウェル



・プラズマ遺伝子導入

