

電界集中を用いたエレクトロポレーションによる高収率遺伝子導入法の開発

関 優

iPS 細胞は体細胞に数種類の遺伝子を導入して培養することで得られる分化万能細胞のことであり、再生医療など臨床応用への期待は大きい。しかし実用化へ向け安全面が課題である。作製時にウイルスを用いて遺伝子を導入しているのだが、ウイルスの情報も一緒に細胞に組み込まれガン化することがある。

そこで代替方法としてエレクトロポレーションを考えた。これは、細胞懸濁液にパルス電圧をかけることで細胞膜に一時的に穴をあけ、外部の物質を導入する手法である。しかし、一定の大きさの細胞にしか導入できないという欠点があり、我々の研究室では電界集中を用いたエレクトロポレーションを行っている。オリフィス部の膜に狙った電圧をかけられ粒径に関わらず穿孔が可能である。

本研究ではこの電界集中を用いたエレクトロポレーションによって MSC(Mesenchymal Stem Cell)に高収率でプラスミドを導入する手法の開発を目的とする。プラスミドは環状 DNA で、目的の遺伝子を組み込めばベクターとしての役割を果たす。MSC は組織幹細胞の一種でヒトの骨髄から採取可能な細胞であるため、この細胞から安全な iPS 細胞をつくる方法を確立できれば再生医療応用への大きな寄与が期待できる。

結果としては、核直下にオリフィスができるようなシートの作製を行いデバイスに用いたところ、生きた細胞の半分以上に導入できるほどの高収率を実現できた。しかし、生きた細胞を一様に保持すること、最適パルス条件出しをすることがさらなる高収率導入法確立に向けての課題である。

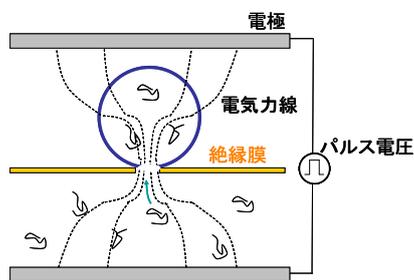


Fig.1 電界集中を用いたエレクトロポレーション概略図



Fig.2 従来シート(左)と新シート(右)

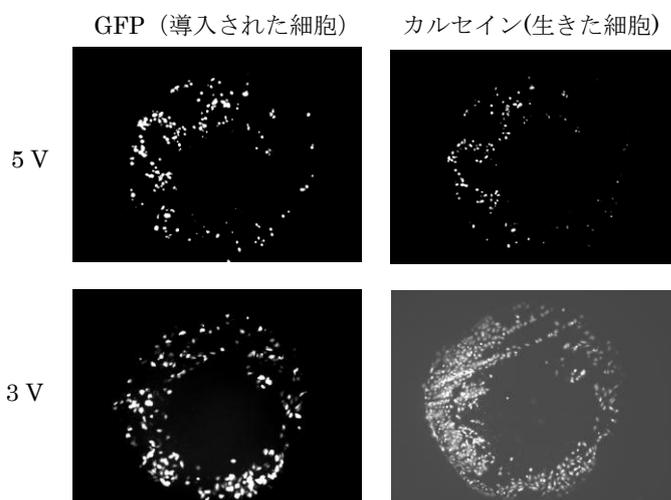


Fig.3 導入収率の観察

上段：5V印加すると最高で生きた細胞のほぼ 100%に導入ができる
下段：3V印加すると最高で生きた細胞の約 70%に導入ができる