

iPS 細胞とは体細胞に数種類の遺伝子を入れて得られる分化万能細胞のことである。体細胞に遺伝子を入れる際にウイルスをベクターに用いているが、ガン化した細胞ができてしまうことがあり安全面が課題となっている。

そこで、代替方法としてエレクトロポレーションの利用を目指した。エレクトロポレーションは、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そこから外部の物質を導入する手法である。導入が純粋に物理的で安全であるが、膜にかかる電圧は粒径に依存するため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る。

これを解決すべく、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。電極間にオリフィスシートを介すことでオリフィス近傍に電界が集中するのでここに狙った電圧をかけることが可能である。我々の研究室ではこれまでもこの手法による物質導入の研究が行われていて、色素などの低分子導入は高収率で可能だがプラスミドなどの電荷をもった高分子は細胞の種類や播種した密度によって収率が異なることがわかっている。しかし、プラスミドをベクターに用いて iPS 細胞を作製するには細胞の種類を問わず高収率で導入する必要がある。そこで、本研究では絶縁膜に独自のマイクロオリフィスシートを用いつつ、電界集中型エレクトロポレーションを応用した。オリフィスシートは細胞核直下に必ずオリフィスが配され(核径約 15 μm)、なおかつ電界集中が保持できるよう設計されたものである。これを用いることで、導入物質は細胞内で拡散せずとも電気泳動の効果だけで核内に直接取り込むことができる。

結果、プラスミド導入率は 50%を超えた。細胞が剥がれやすい状況であり細胞欠損が発生してしまう可能性が拭えず、安定的に高収率導入を行うには更に優れたゲル充填法を考案することが課題であるが、現時点でウイルスベクターを用いた時よりも高収率な導入は実現された。このことから、ウイルスを用いることなく遺伝子導入を行う方法として、iPS 細胞作製にも実用できるのではないかと考える。