

エレクトロスプレーによる帯電液滴を利用した細胞への遺伝子導入

Gene Introduction into Living Cells by Charged Droplet with an Electrospray Process

池本 一人¹、小池 加奈子²、坂井 貴文^{2*}

Kazuto Ikemoto¹, Kanako Koike², Takafumi Sakai²

¹ 三菱ガス化学株式会社

Mitsubishi Gas Chemical Co., Ltd

² 埼玉大学 理学部生体制御学科

Division of life science, Saitama University

Abstract

Water droplets produced by electrospray can introduce DNA into living cells. Charged droplets make transient holes for DNA transport. The number of DNA-introduced cells increased with increase in applied voltage. This technique can be applied to gene transfection into eukaryotic cells (CHO, Hela culture cells), tissue (chicken embryo) and prokaryotic cell (*E. coli*) and will be useful for industrial applications.

Key Words: Electrospray, DNA, Transfection, Drug delivery, aerosol

1. 目的

エレクトロスプレーは高電圧を印加したチューブ先端から液体が微細化して高速に噴霧される現象である。このエレクトロスプレーは質量分析分野において大気圧下、高分子量に適用可能なイオン化法として使用され、生命科学分野に対し多くの貢献をしてきた。このエレクトロスプレーを利用した質量分析以外の応用としてエレクトロスプレースピニング法、エレクトロスプレーデポジション法を用いたナノファイバー、バイオチップが作成されている。我々はこれらと異なる応用として実際の遺伝子

工学（遺伝子導入）に応用できないかと考えた。遺伝子を細胞に導入する物理的方法にはエレクトロポレーション法、ジーンガン法等が知られている。これまでにエレクトロスプレー法の遺伝子工学における応用例としてジーンガン粒子の推進力に使用している例が報告されている¹⁾。我々はエレクトロスプレーによって生じる帯電液滴を細胞に衝突させることで一過性の穴をあけ、そこから遺伝子を導入する方法を開発した²⁾。

2. 結果および考察

今回、開発した遺伝子導入方法の模式図を Fig.1 に示す。DNA と共存下の細胞をグラウンド電位として液体をスプレーすることで細胞に DNA を導入す

* 〒338-8570 さいたま市桜区下大久保 2 5 5
電話：048-858-3869 FAX：048-858-3422
Email：tsakai@post.saitama-u.ac.jp

ることが出来た。

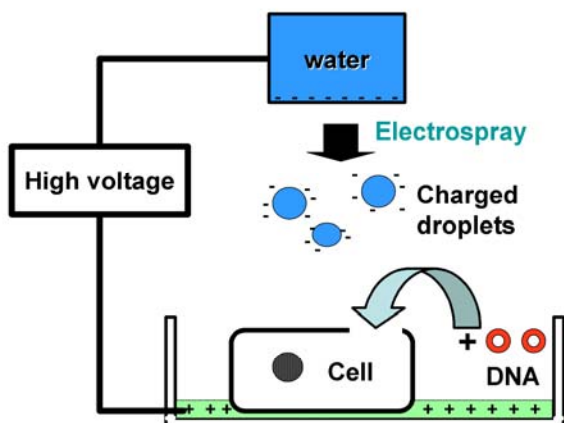


Fig 1 遺伝子導入の模式図

代表的な培養動物細胞であるチャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO 細胞)、ヒト子宮ガン培養細胞(Hela 細胞)を使用した。この二つの細胞は共に同様の結果を与え、以下は CHO 細胞を使った実験を示す。細胞を培養した 3,5cm ポリスチレンディッシュから培地を抜き、緑色蛍光蛋白質(GFP)をコードしたプラスミド DNA である pEGFP-N1 ($10 \mu\text{g}$) を溶かした水溶液 $100 \mu\text{l}$ を加え、高さ 2 cm から内径 0.1 mm のステンレスノズルに印加電圧は $\pm 7 \sim 18 \text{ kV}$ 、供給速度は $100 \sim 200 \mu\text{l}/\text{min}$ で水をエレクトロスプレーした。一晚培養後、蛍光顕微鏡観察した。この細胞において水をスプレーする場合、電圧を上げると蛍光を発する細胞の割合が増加し、導入される細胞数が増加した(Fig 2)。

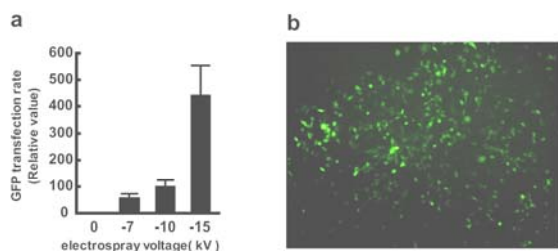


Fig 2 a: 電圧依存性、b: 蛍光顕微鏡写真

ステンレスノズルでは電圧に比例して放電による電流も増加したが放電だけでは導入されず、帯電液滴の衝突が重要である。また、細胞の容器にアース

をとらない場合、遺伝子の導入はほとんどなかった。これは帯電した静電気力で引かれる重要性を示している。

この方法は真核細胞の培養動物細胞だけでなく、組織や原核細胞でも有効な方法であった。ニワトリ胚に DNA を塗布し、燐酸バッファーをスプレーすることで遺伝子を導入することが出来た。また、大腸菌ではアースを取った寒天培地上のコロニーにアンピシリン耐性遺伝子をもつプラスミド DNA (pUC19) 溶液を混合し、そこに水をエレクトロスプレーすることで DNA を細胞内に導入できた。

3. まとめ

エレクトロスプレーを使用した新しい遺伝子導入方法を開発することができた。この方法はこれまでの物理的遺伝子導入方法のエレクトロポレーションやパーティクルガンに比べ、非常にソフトな遺伝子導入方法である。また、広い種類の細胞に適用でき、ランニングコストも非常に小さい。さらに、この方法は小型化、ロボット化も容易であり、遺伝子だけでなく、広い意味での新たなドラッグデリバリー技術に発展する可能性を有している。

参考文献

- [1] D. Chen, C. H. Wendt, D.Y. Pui, J. Nanopart. Res. **2**, 133-139 (2000)
- [2] Y. Okubo, K. ikemoto, K. Koike, C. Tsutsui, I. Sakata, O. Takei, A. Adachi, T. Sakai, Angew. Chem. Int. Ed. **47**, 1429-1431 (2008).