

※新聞：12月8日 朝刊以降 解禁  
※インターネット：12月8日 午前4時以降 解禁

国立大学法人豊橋技術科学大学 *Press Release*

平成27年12月4日

# 細胞への遺伝子導入の革新的新法 「液滴エレクトロポレーション」の開発

—細胞と外来性 DNA を封入した油中の水滴に電界をかけ、

## 細胞に外来性 DNA を並列的に導入する —

豊橋技術科学大学は、今回、液滴エレクトロポレーションという、革新的な細胞への遺伝子導入法を開発した。細胞と外来性 DNA を封入した液滴に直流電界を印加すると、絶縁体の油中で電極間を液滴が往復運動し、短絡現象が生じる間に DNA が細胞に導入され、細胞の生理機能に変化する。この技術は、使用する細胞や DNA 量を大幅に削減可能であり、ハイスループットのスクリーニングが可能となり医学に革新をもたらすことができる。

### <研究経緯・研究組織・研究内容・今後の展開>

細胞の発生運命や多様な機能は、ゲノムの中でどの遺伝子がどういう順番で、どのくらい働くかで決まる。細胞には、こうした精妙な仕組みがあるが、多数の遺伝子を外から導入すると、細胞の運命や機能を変えることができる。しかし、細胞もこうした、外部攪乱から身を守るために、簡単には外来性の遺伝子を導入しないよう、細胞膜で独自の遺伝情報を守っている。細胞に高電圧をごく短時間印加することにより、細胞膜に可逆的に細孔を開け、遺伝子、タンパク質、薬剤などを細胞内に導入するエレクトロポレーションという方法がある。市販のエレクトロポレーション装置は、高い電圧の電気パルスが発生する高価な特殊パルスジェネレーターを必要とする。

豊橋技術科学大学 環境・生命工学系の栗田弘史助教と環境・生命工学系/エレクトロニクス先端融合研究所(EIIRIS)の沼野利佳准教授は、十分な細胞生存率と遺伝子導入効率を示す遺伝子導入法である液滴エレクトロポレーションの開発に成功した。まず、細胞と導入したい DNA を絶縁体であるオイルの中の、数マイクロリットルのごく少量の水滴に封入し、ここに直流電界を印加する。電界中の液滴はクーロン力によって電極間で往復運動したり、より高い電圧を印加することで変形したりする(図1)。この間に、細胞に瞬間的に電気パルスが印加され、細胞膜に細孔を開

けて複数種の遺伝子を導入でき、細胞の生理機能が変化する。

豊橋技術科学大学 環境・生命工学系の栗田弘史助教と水野彰教授は、「本法は、直流電源による処理のため、高価なパルスジェネレーターが必要ない。また、数マイクロリットルの油中水滴を処理容器として用いるため、従来のエレクトロポレーションと比較して、試料となる細胞、導入 DNA 量を大きく削減できる。」と説明する。

豊橋技術科学大学 環境・生命工学系/エレクトロニクス先端融合研究所の沼野利佳准教授は、「本法で、1000 個単位のそれほど多数でない多様な細胞に対し、多種類の DNA が導入可能であり、並列的処理によるハイスループットのスクリーニングによって医学に革新をもたらすことができる。今まで遺伝子導入が困難であるとされてきた神経細胞やゲノム DNA の改変も可能で、再生医療と遺伝子治療のための遺伝子導入を大いに発展させるものである。」と説明する。

論文:

Hirofumi Kurita, Shota Takahashi, Atsushi Asada, Minako Matsuo, Kenta Kishikawa, Akira Mizuno, and Rika Numano (2015). Novel Parallelized Electroporation by Electrostatic Manipulation of a Water-in-oil Droplet as a Microreactor, *PLoS ONE*: 10.1371/journal.pone.0144254

謝辞: 本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業 (24590350、24108005、24760648、26390096) の助成を受けたものです。また、沼野利佳の国立研究開発法人 科学技術振興機構エレクトロニクス先端融合領域若手育成プログラム、科学技術人材育成費補助金 女性研究者研究活動支援事業 (連携型)、武田科学振興財団のビジョナリーリサーチ助成と立松公益財団の研究助成にもよるものです。

図 1: 新規の簡易液滴エレクトロポレーション導入装置の概要と原理

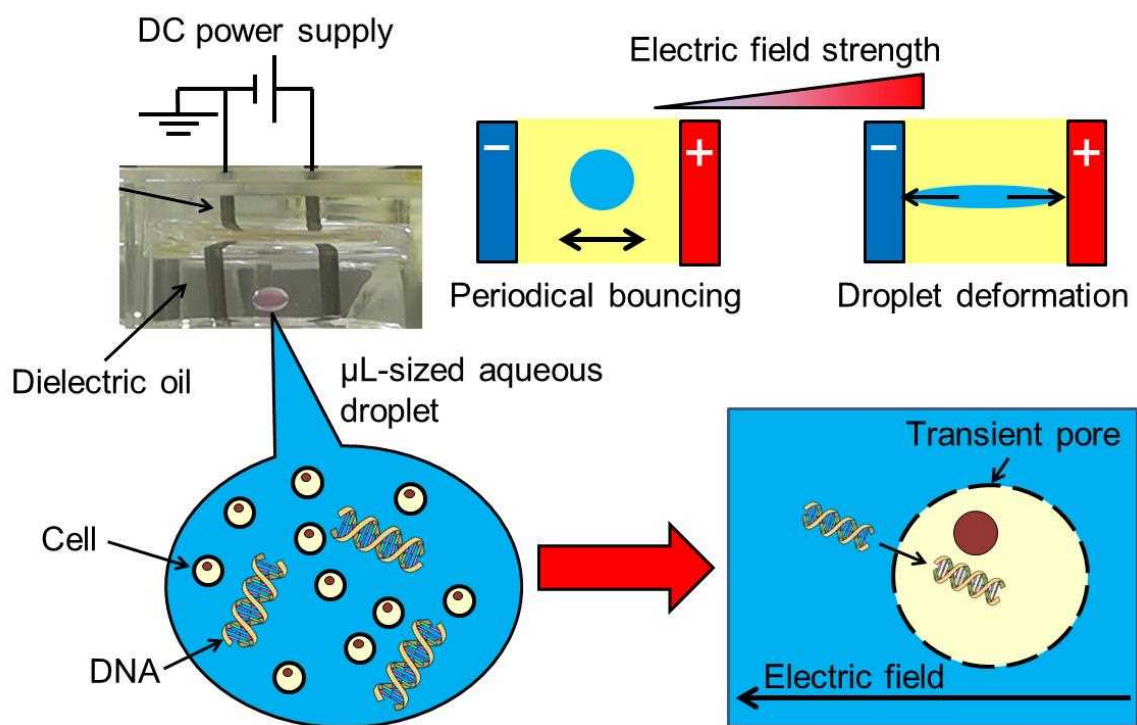


図 2: 96 穴プレート用液滴エレクトロポレーション電極と蛍光蛋白発現遺伝子 (GFP, RFP) を形質導入された HEK293 細胞 BF: 明視野画像、GFP: 緑蛍光タンパク質コード DNA 導入細胞画像、RFP: 赤蛍光タンパク質コード DNA 導入細胞画像、Merge: GFP と RFP の重ね合わせ画像

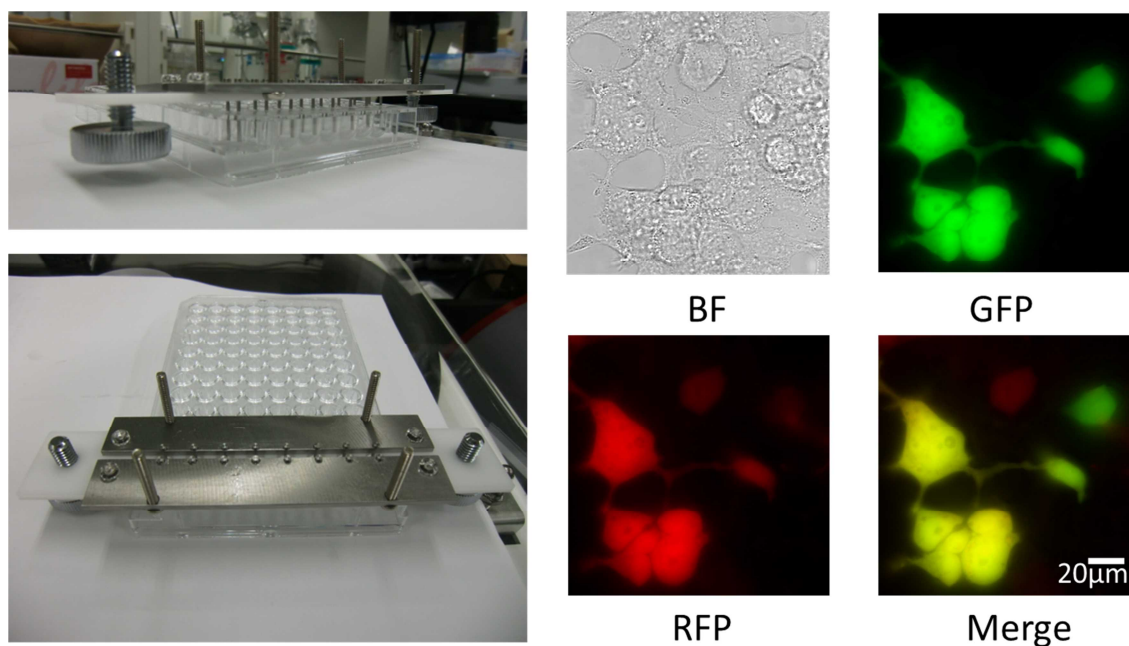
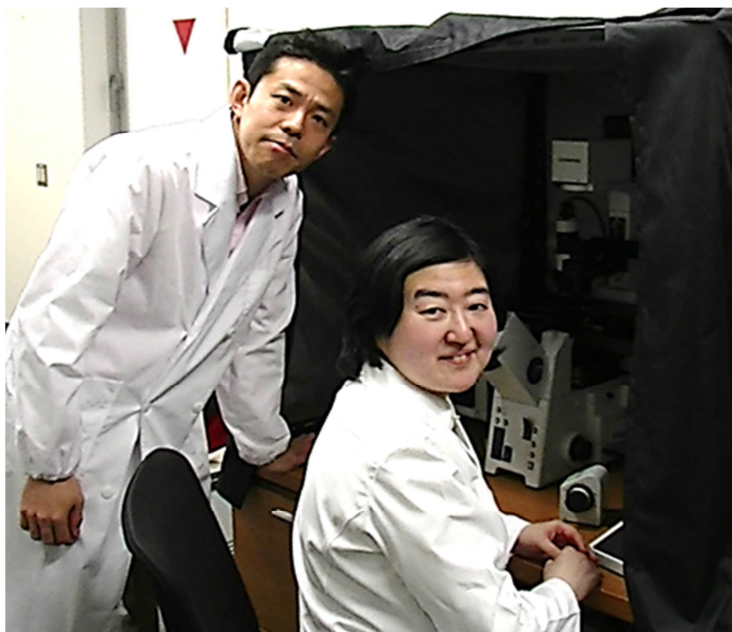


図3: 栗田弘史 (左) と沼野利佳 (右)



本件に関し取材ご希望の際は、下記広報担当までご連絡下さい。  
担当：環境生命工学系 沼野利佳 TEL:0532-44-6902  
広報担当：総務課広報係 高柳・梅藤 TEL:0532-44-6506