

エレクトロポレーション技術を用いた細胞内物質導入の研究

東京大学大学院工学系研究科機械工学専攻

Okeyo Kennedy

【目的】

エレクトロポレーション技術を用いた細胞内物質導入の研究を行うために、電界集中型電気穿孔法デバイスを製作する。

【成果】

電界集中型電気穿孔法デバイスを作製するフォトマスクを作製し、フォトリソグラフィ法により無数の穿孔（径2 mm）を持った、厚さ2 mmのオリフィスシートを光硬化性樹脂（SU-8）より作製した（図1）。

さらに、オリフィスシートをマイクロデバイスの電極間に挟み込み、オンチップエレクトロポレーションデバイスを作製した（図2）。オリフィス近傍で生じる電界集中を利用することにより、低侵襲かつ効率よく細胞内へ物質（プラスミド等）を導入できることがこのデバイスの大きな特徴である。本実験では、このデバイスを山中因子による体細胞の初期化過程の観察に用いた。

まず、GFPプラスミドの発現を指標に、細胞内物質導入の成否を判断した。パルス印加から1時間後、図3に示すように、Fucciの発現により核が光るHeLa細胞に加え、細胞質全体の光る細胞も観察された。また、細胞周期プローブを発現するHeLa細胞内に細胞の初期化因子（山中因子）を導入し周期の変化を経時的に観察した結果、DNA合成期から細胞分裂の間に細胞周期の回転が止まる現象を観察した。これは、初期化過程における山中因子の影響として考える。

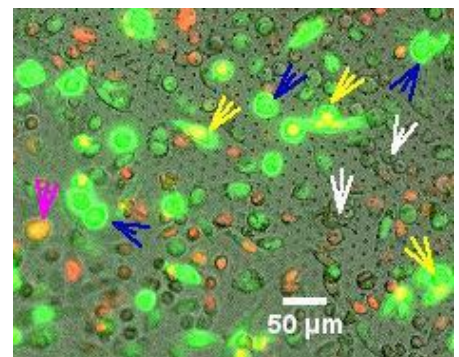
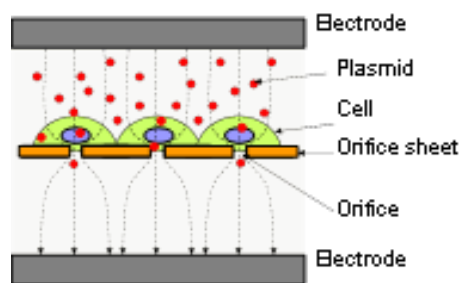
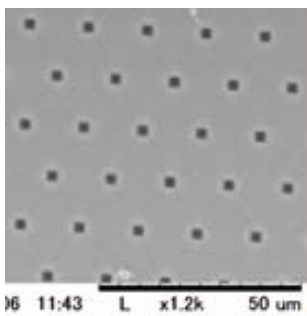


図1 オリフィスシート

図2 電界集中型電気穿孔法

図3. GFPを発現しているHeLa細胞