

ゲノムスケールの DNA 設計・合成による細胞制御技術の創出
2019 年度採択研究代表者

2021 年度 年次報告書

山西 陽子

九州大学大学院工学研究院
教授

電界誘起気泡及び DNA ナノ粒子結晶による長鎖 DNA の導入・操作技術の研究

§ 1. 研究成果の概要

本 CREST チームでは、電気・物理刺激による導入手段「電界誘起気泡」法、DNA ナノ粒子結晶技術を分野横断的に組み合わせ、長鎖 DNA を「包んで細胞に入れて徐放する」ことで細胞内の長鎖 DNA を機能させることを目指し研究を遂行している。具体的には

- ・物理スケールに非依存な電気・物理刺激による導入手段「電界誘起気泡」法
 - ・様々な物理スケールの分子を封入可能な DNA ナノ粒子結晶
 - ・ゲノム編集を含む分子生物学・光化学的ツール
- を組み合わせ、

- (1)長鎖 DNA を DNA ナノ粒子結晶に封入するプロセス
- (2)電界誘起気泡による DNA ナノ粒子結晶の細胞への物理的導入
- (3)DNA ナノ粒子結晶による細胞内長鎖 DNA 徐放と機能発現を確立し、

長鎖 DNA を「包んで入れて徐放する」ことで物理的に脆弱な長鎖 DNA を細胞に容易に導入し、細胞内で長鎖 DNA を機能させる。他の導入法の国内外の類似研究とは導入対象のダイナミックレンジと導入材料の大きさにおいて一線を画す技術を目指して研究を行った。

2021年度のチーム全体の研究成果の概要は下記の通りである。

- (a)長鎖 DNA やその DNA を機能化した微細構造体を導入するために、電界誘起気泡による電気・物理的刺激による導入法である“Electromechanical Poration”を確立した。この方式による高効率な導入の達成のためには高い細胞濃度が条件であったが、低い細胞濃度においても増粘剤添加によって同等の効果を示すことが実証された。
- (b) Electromechanical Poration 法により、DNA を機能化した微細構造体($\sim 1 \mu\text{m}$)を細胞に注入することに成功した。
- (c) “Electromechanical Poration 法”において様々なアプリケーションを受け入れ、領域の活性化を強く推進するための Electromechanical Poration 西日本拠点と東日本拠点にそれぞれ設置・整備を行った。

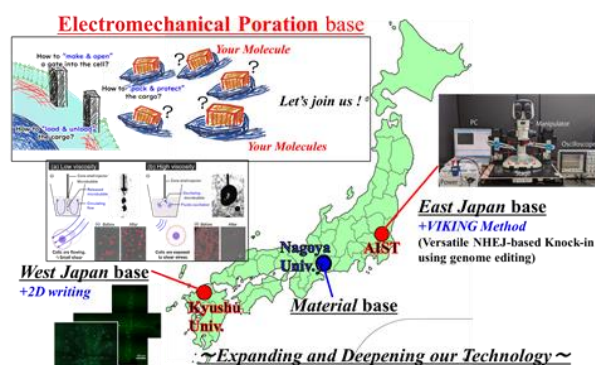


図 0-1: Electromechanical Poration 西日本拠点と東日本拠点

§ 2. 研究実施体制

(1) 山西グループ

- ① 研究代表者:山西 陽子 (九州大学大学院工学研究院 教授)
- ② 研究項目
 - ・電界誘起気泡による DNA ナノ粒子結晶の細胞への導入デバイス構築
 - ・発生气泡のサイズコントロールと侵襲性評価と制御
 - ・細胞導入済み DNA ナノ粒子結晶の結晶性評価手法によるダメージ評価
 - ・電界誘起気泡による動物細胞 NIH/3T3 等への DNA ナノ粒子結晶導入
 - ・動物細胞に導入された DNA ナノ粒子結晶に封入された DNA の徐放及び機能発現

(2) 田川グループ

- ① 主たる共同研究者:田川 美穂 (名古屋大学未来材料・システム研究所 准教授)
- ② 研究項目
 - ・長鎖 DNA を封入するための DNA ナノ粒子結晶の構築
 - ・細胞導入済み DNA ナノ粒子結晶の結晶性評価手法によるダメージ評価

(3) 菅野グループ

- ① 主たる共同研究者:菅野 茂夫 (産業技術総合研究所生物プロセス部門 主任研究員)
- ② 研究項目
 - ・長鎖 DNA を封入するための DNA ナノ粒子結晶の構築
 - ・ゲノム編集技術応用による結晶開裂技術・機能発現技術の構築

(4) 若手チャレンジ・鳥取グループ

- ① 主たる共同研究者:鳥取 直友 (九州大学大学院工学研究院 助教)
- ② 研究項目
 - ・微小液滴を用いた細胞融合用マイクロ流体デバイスの構築
 - ・マイクロ流体デバイスの性能評価