

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

2022 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

主たる共同研究者:

菅野 茂夫 (産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門 主任研究員)

田川 美穂 (名古屋大学 未来材料・システム研究所 准教授)

坪内 知美 (自然科学研究機構基礎生物学研究所 幹細胞生物学研究室
准教授)

研究成果の概要

■2022 年度に得られた成果についての概要

本チームでは電界誘起気泡を用いた細胞内へ高効率な分子導入を目指し、システム開発を行ってきた。2022 年度は、電界誘起気泡生成時の超高速流体现象を可視化することで、細胞内へ分子を導入するための鍵は、電界-流体现象の連携現象である細胞の機械的刺激であることを明らかにし、この学理に基づく新たな分子導入の学理、“Electromechanical Poration”を実証した。この導入方法においては、電界誘起気泡生成時に培養液を伝播する適度な機械的刺激により、細胞膜を裏打ちする細胞内骨格のリモデリングを誘導することで、印可電界強度依存的な膜穿孔の電界閾値を下げることに貢献し、高効率かつ高い生存率で細胞内への分子導入を達成できることがわかった。これらの成果に基づき Electromechanical Poration 拠点を西日本(九大)と東日本(産総研)にそれぞれ設置・整備し、今後の実用化へ向けてトライアルで使用できる環境を整えている。なお、2022 年度より基生研の坪内グループが本 CREST チームに編入し若手チャレンジの九大・鳥取研究者とともにマイクロ流体チップを用いた細胞融合による長鎖 DNA 導入研究を進めている。さらに若手チャレンジの産総研・鈴木研究者も参画し植物色素生合成経路を活用した長鎖 DNA 導入時に有用な形質転換マーカーの研究を進めている。

<代表的な原著論文の概要>

- 1) 1)の論文では、誘電体材料で覆われた微細電極からなるコアシェル構造のマイクロバブルインジェクターを用いて、電気物理的的刺激で細胞に穿孔をつくり、分子を細胞へ導入できることを達成し、細胞懸濁液の粘度を高めることで導入効率が向上することを見出した。
- 2) 2)の論文では、粒子間距離や空間配置を制御可能な、DNA 修飾金ナノ粒子結晶を新しくデザインし、結晶内の細孔に CRISPR-Cas9 の RNP 等の生体分子を封入することに初めて成功した。加えて、CRISPR-Cas9 の RNP を封入した結晶を植物(シロイヌナズナ)へ導入し、実際にゲノム編集を確認できた。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Viscosity-aided electromechanical poration of cells for transfecting molecules”, Lab on a chip (2022), No.22, Vol.22, pp.4259-4458, (2022) (DOI: 10.1039/d2lc00628f), Authors: W. Huang, S. Sakuma, N. Tottori, S. S. Sugano and Y. Yamanishi.
- 2) “DNA-functionalized colloidal crystals for macromolecular encapsulation DNA-functionalized colloidal crystals for macromolecular encapsulation”, Soft Matter, Vol.18, pp.6954-6964, (2022) (DOI: 10.1039/D2SM00949H), Authors: M. Yokomori, H. Suzuki, A. Nakamura, S. S. Sugano, M. Tagawa.