

課題番号 : F-15-GA-0020  
利用形態 : 共同研究  
利用課題名(日本語) : 遺伝子導入デバイスの作製  
Program Title (English) : Fabrication of electroporation device for plant cell  
利用者名(日本語) : 秋光和也  
Username (English) : K. Akimitsu  
所属名(日本語) : 香川大学農学部  
Affiliation (English) : Faculty of agriculture, Kagawa University

### 1. 概要(Summary)

近年、環境適応力や病害虫抵抗性を向上させ、作物の安定供給や農業生産性向上を目的とした植物への遺伝子組み換え技術の研究が進められている。主に、アグロバクテリウム法やパーティクルガン法、エレクトロポレーション法(EP法)が用いられているが、いずれも対応細胞種の制限や遺伝子導入効率の低さといった問題がある。これらの問題をMEMS技術により解決しようという試みが進んでおり、マイクロ領域で選択的にEPを行う $\mu$ EP法を検討した。本年度も継続して、多数のデバイスを製作し、印加電圧を最適化による細胞生存率の向上と植物細胞内へのプラスミドベクター導入・発現を検討した。

### 2. 実験(Experimental)

・利用した主な装置

・走査電子顕微鏡(LV付き)(JEOL社製, JCM-5700LV)

・実験方法

ソフトリソグラフィ法を用いて細胞固定オリフィスを有する遺伝子導入デバイスを製作した。始めに、平滑基板上にスプレーコータを用いて厚膜フォトレジストを均一塗布し、回転傾斜露光法により3次元形状を有する樹脂製微細鋳型を製作した。

つぎに、鋳型に Polydimethylsiloxane (PDMS) を流し込み、加熱硬化して、離型することによって、透明微細流路を作製した。最後に、あらかじめ電界印加用の電極を配置したガラス基板上に、酸素プラズマ接合を用いて、ガラスとPDMS製チップを接合し、デバイスが完成する。離型したPDMS製微細流路は、接合前に、走査電子顕微鏡で加工形状評価を行った。

### 3. 結果と考察(Results and Discussion)

作製したチップの細胞固定部位のSEM写真をFig. 1に示す。幅400 $\mu$ mの2流路とそれをつなぐオリフィス群からなる。スライドガラス上にパターンニングされたアルミ電極と、PDMS製流路を張り合わせた簡単な構造で、使い捨て可能なチップが作製できた。さらに、物質導入の可否を早期に判別できる導入実験を行い、印加電圧の最適化により、生細胞への物質導入効率を8%にできた。

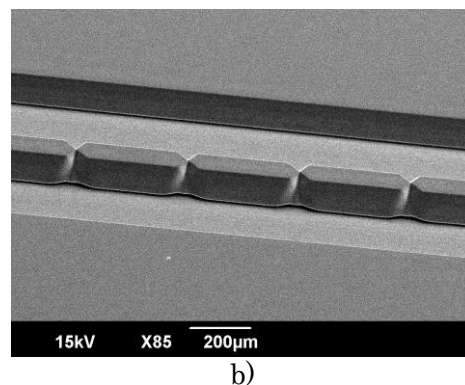


Fig. 1 SEM image of cell trap structures of electroporation device for plant cell

### 4. その他・特記事項(Others)

参考文献

古谷尚輝ら、電気学会 第32回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 30am2-PS-124, 2015/10/28-30, 朱鷺メッセ(新潟県新潟市)

共同研究者: 香川大学 下川房男 教授

### 5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

なし

### 6. 関連特許(Patent)

なし