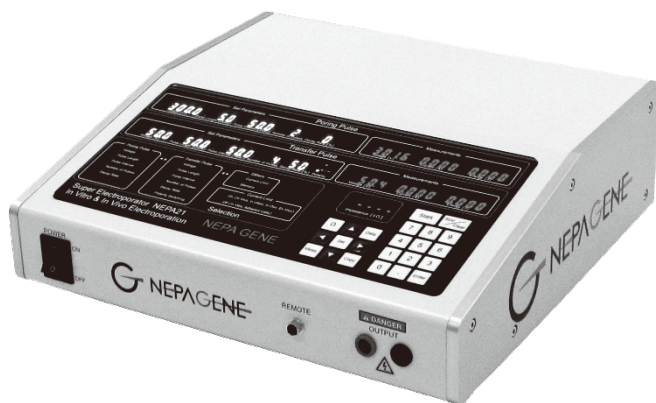


## 多段階のパルス出力で遺伝子導入の効率化を達成



細胞への遺伝子導入の導入効率を高めると同時にランニングコストも抑制。再生医療分野にも大きな貢献が期待される。

## エレクトロポレーション法による外来遺伝子導入法

### エレクトロポレーションとは

かねてより、細胞はある一定の電気を加えることで、細胞膜に一過性の穴が開くことが知られている。この技術を用いて、細胞の内部へ薬剤や外来遺伝子、タンパク質等を導入する方法をエレクトロポレーションと呼び、研究現場では既に30年以上の歴史がある技術である。

細胞内へ遺伝子等を導入する技術はエレクトロポレーション以外にもいくつかあり、リポフェクションと呼ばれる試薬を用いる方法や、ウイルスベクターと呼ばれる、ウイルスが細胞へ感染するメカニズムを応用する方法などが代表的だが、前者は細胞に対するダメージが大きく作業手順も複雑であり、後者は細胞にウイルスを感染させるという点で、今後の人間への臨床応用で問題がある。

しかしエレクトロポレーションは、電気という物理的エネルギーを用いて導入する技術であるので、難しい試薬を扱うこともなければ、細胞がウイルスに感染することもない、非常に簡便でクリーンな技術と言える。

### 従来装置の問題点

しかし、エレクトロポレーションにデメリットが無いかというと、決してそんなことはない。電気で細胞膜に穴が開くことは既に説明した通りだが、その穴の大きさは電圧に比例する。もちろん大きな穴が開いた方が遺伝子等の導入効率は高くなるが、その分電圧も高くなるので細胞へのダメージが大きくなり、それにより死滅する細胞が多くなる。逆に弱い電圧では細胞膜に穴が開かず、何も導入されない。

エレクトロポレーションの技術が世に出始めた頃の装置は「エクスポネンシャルパルス」(図-1)と呼ばれる波形を出力するものだった。また現在では、「モノスクエアパルス」(図-2)を出力できる装置が主流となっているが、どちらのパルスも細胞へ与えるダメージは大きく、そのためエレクトロポレーションという技術全体が今でも「半分の細胞は死滅する。生き残った半分にどれだけ導入されているか。」という考え方でとらえられている。しかも細胞を保護する目的や、導入を促進する目的で、高価な専用の試薬を併用しなければならない機種も多く、膨大なランニングコストが必要なこともデメリットとして挙げられる。

### 本製品の特徴

そういった問題点を改善すべく開発されたのが本製品、「In Vitro & In Vivo 遺伝子導入装置 スーパーエレクトロポレーター NEPA21」(以下、NEPA21)である。NEPA21が実際に出力した波形を図-3に示す。

ご覧のように、多段階のパルスを出力できることがお分かり頂けるのではないだろうか。それでは、それぞれのパルスがどういった働きをしているのか簡単に説明をさせて頂く。

図中のStep1及びStep2は、細胞膜に穴を開

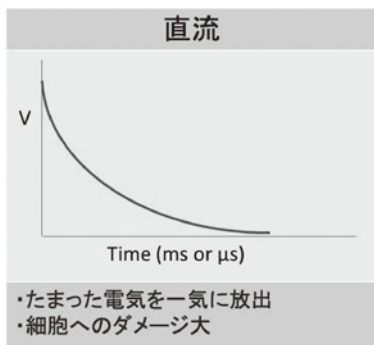


図-1 エクスポネンシャルパルス

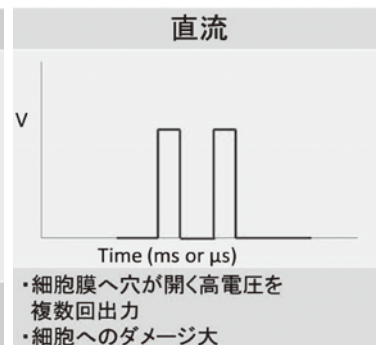


図-2 モノスクエアパルス

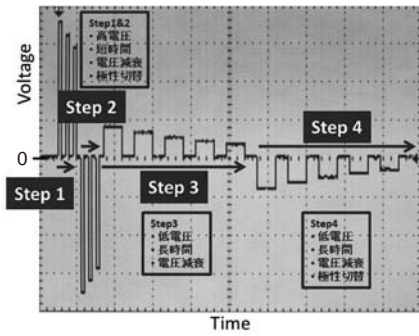


図 - 3 NEPA21 が実際に出力した波形

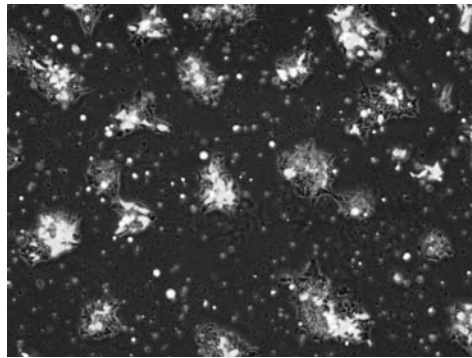


写真 - 1 NEPA21 を用いて遺伝子導入を行った後の iPS 細胞

けるためだけのパルスで、弊社では「ポーリングパルス」と呼んでいる。Step3 及び Step4 は、前述のポーリングパルスによって細胞膜に開けられた穴から、外部の遺伝子等を細胞内に送り込むためのパルスで、「トランスファーパルス」と呼んでいる。

ポーリングパルスは高電圧であるが、非常に短時間であるため、細胞に与えるダメージを最小限に抑えることができる。

しかし、このままでは穴が開いただけで遺伝子等が導入されないため、細胞へダメージを与えない低電圧のトランスファーパルスによって電気泳動を起こし、細胞内へ送り込むという仕組みである。

さらに電気の極性を自動で切り替えることで、さらに導入効率を上げることができる。

遺伝子等はマイナスに帯電している性質をもち、電気をかける際、プラス側の電極方向へ引き寄せられるが、電気の極性を切り替えることで反対方向へも引き寄せることができ、導入効率が上がるのである。

このように波形に特徴を持たせることで、細胞へ与えるダメージは少なく、かつ導入効率を上げることに成功した。そのため細胞を保護する試薬や導入を促進する高価な専用の試薬も不要となり、ランニングコストが抑えられることも特徴である。具体的には試薬を用いる他社装置がエレクトロポレーション一回当たり 2000 円～ 2800 円程度必要であるのに対して、NEPA21 は一回当たり高くとも 280 円である。

### 本製品の研究応用～京都大学にも納入

本製品は発売以降 2 年が経過し、既に多くの研究者によって様々な実績が上げられている。最近では京都大学 iPS 研究所の山中伸弥教授がノーベル生理学・医学賞を受賞されたことは記憶に新しいが、その京都大学 iPS 研究所にも、山中教授の研究室を含め NEPA21 は既に 5 台納品されている。写真 - 1 は NEPA21 を用いて遺伝子導入を行った後の iPS 細胞。

また、次世代燃料として期待されている、バイオエタノールを研究する現場でも NEPA21 は活用されている。原油と酷似した組成の油を分泌する藻類へのエレクトロポレーションで、従来機の 6 倍以上の導入効率を上げている。

ここまでは培養細胞の話であったが、細胞の集合体と考えることのできる生体でも、目的に

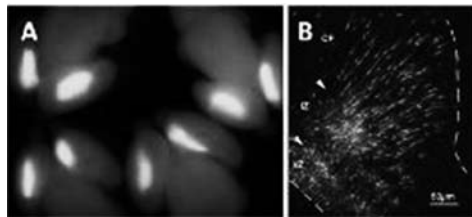


写真 - 2 実験用妊娠マウスの胎児の脳室へ直接遺伝子導入した画像  
〔 A: 脳蛍光画像 B: A のスライス切片 〕

合わせた電極を用いることで、同じエレクトロポレーションで遺伝子等を導入することができる。

写真 - 2 は実験用妊娠マウスの胎児の脳室へ直接遺伝子導入をした画像である。( A: 脳蛍光画像 B: A のスライス切片 )

導入された胎児はそのまま生存し、出生させることも可能である。

発生途中であるマウス胎児の脳へ遺伝子を導入することによって、脳神経の形成や発達を継続的に観察することができる。

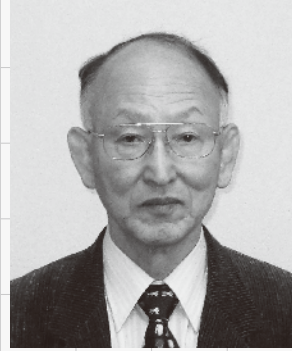
その他にも、各臓器の切片や組織、ニワトリ胚、昆虫細胞、多数の細胞種、多くの部位への導入が可能で、幅広い研究者のニーズに合わせて電極の種類も豊富に取り揃えている。

### 今後の展望

導入効率の高さと、ランニングコストの縮小などの利点から、既に国内の多くの研究室、製薬メーカーなどに納品されている NEPA21 が、海外への輸出も開始しており、既に 100 台近くを輸出している。しかし国内に比べるとまだ認知度は高くなく、今後さらなる需要が見込めると考えている。エレクトロポレーションの装置を販売している企業は世界に数社存在するが、目指すは世界シェアトップである。

### 終わりに

山中教授のノーベル賞受賞もあり、国としても科学技術の発展に力を入れていこうとしている昨今、バイオテクノロジーの分野も今後さらなる進歩が期待される。そんな中、理化学機器を扱う弊社としては、今回の受賞をさらなる励みとし、科学や医療の発展に貢献できるよう努めていきたい。



ネッパジーン(株)  
代表取締役

早川 靖彦



ネッパジーン(株)  
営業部  
マネージャー

早川 清

ネッパジーン(株)  
代表取締役  
早川 靖彦

〒272-0114  
千葉県市川市塩焼  
3-1-6  
電話：047-306-7222

# 懇談会 受賞者による体験発表

表彰式終了後に「懇談会」を開催し、受賞者の方々に発明の苦労話などを披露いただいた。いずれも製品開発に挑戦する熱意や使命感が語られ、ものづくりに携わる列席者一同の共感を呼んだ。

〔\* 発明大賞本賞の(株)エディプラス 代表取締役 村田和久氏については、11頁の受賞者代表挨拶を参照〕



受賞23件のうち、7名の方々に開発のエピソードを語っていただいた



主催関係者にとって受賞者の“生の声”を拝聴する貴重な場である



ものづくりの苦労や醍醐味を共有する者同士、熱心に耳を傾けていた

## 時代の先端、再生医療やバイオエタノールへの展開

発明大賞東京都知事賞  
ネッパジーン(株) 代表取締役 早川靖彦



「遺伝子導入装置」とは、細胞に電気ショック(電気パルス)を与えて、遺伝子を入れる装置です。細胞は、動物細胞や植物細胞、そして両生類の細胞にも使用することができ、また、バラバラにした状態の細胞、組織でも可能です。

その他の方法として、遺伝子試薬を入れる方法、ウイルスベクターを用いる方法などがありますが、試薬の方法は細胞の毒性や選択性といった性質に左右されてうまくいきません。ウイルスベクターの場合は、遺伝子を入れた後のウイルスの発がん性等の問題がありました。

そこで、電気ショックを使う方法というのは従来からあった技術ですが、旧来の装置は、遺伝子はうまく細胞に入りますが、入った細胞が死んでしまう。つまり、細胞の生存率と導入効率が悪いという課題がありました。

今回の発明のコンセプトは、この生存率と導入効率を向

上させ、より手軽に、浮遊状態の細胞や組織といったものにも、この1台の装置で応用が可能である装置を開発することでした。

この装置の利点は、「電気の通電方法」にあります。従来のように電気ショックを一気にかけて細胞に穴をあけて遺伝子を入れるのではなく、数回に分けて入れるということを思いつきました。簡単に言いますと、細胞に瞬間的に高く短いパルスを与えることで、細胞にダメージを与えずに電気を入れこむことができ、そして、周囲の遺伝子を入れるということです。また、その途中で極性を変えて、リバースすることで効率を上げる仕組みをつくりました。

販売先として、大学の医学部、薬学部、生命科学部等、遺伝子を預かっている機関、製薬会社を主なターゲットとし、海外輸出も展開しています。

また、最近のトピックとして、iPS細胞に関する再生医療への応用や、藻類(藻)から油脂をつくり、バイオエタノールに使うなど、今後も広範囲にわたって利用できることを期待しています。