

アプリケーション (CUY21EDIT・CUY21SC)

In Ovo エレクトロポレーション法によるニワトリ脳胞への遺伝子導入 [文献 1]

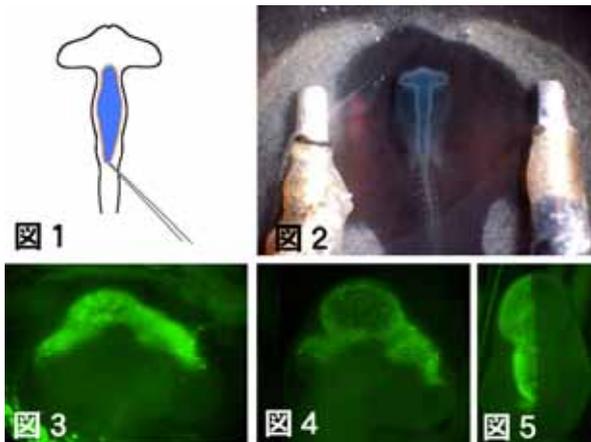


図 1: ニワトリ 1.5 日胚の脳胞へ Fast Green を含むプラズミド溶液 (青色) を注入する。

図 2: 脳胞の左右に平行電極を置き、25V、50ms の電圧を 1 秒間隔で 4 回かける。

図 3: GFP 遺伝子を導入した場合、24 時間後には GFP 蛍光が各脳胞で強く検出される。

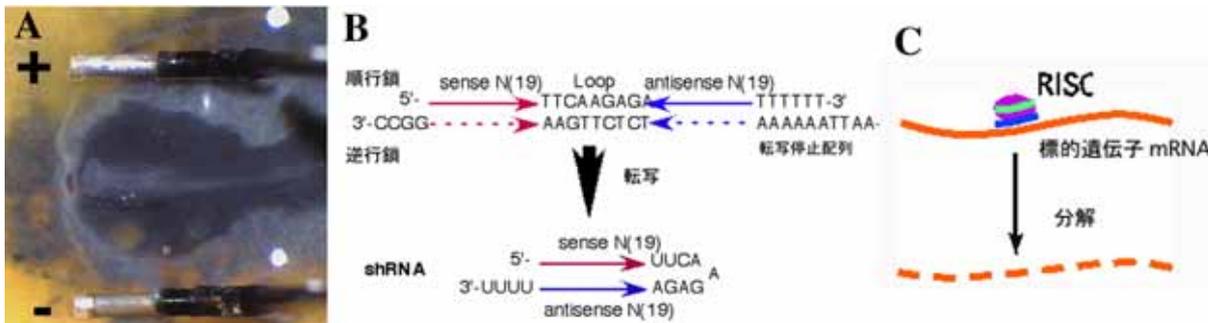
図 4: GFP 遺伝子導入 48 時間後でも GFP 蛍光が検出される。

図 5: 図 4 の胚を上部から見ると、遺伝子導入は胚の右側の脳胞に局限されていることがわかる。

本方法により、転写因子 (Engrailed, Pax, Otx2, Gbx2)、分泌因子 (Fgf, Shh, Semaphorin)、受容体 (Neuropilin) などの局所導入をおこない、脳胞の形態変化、領域の改変、軸索走行の異常、下流遺伝子の発現変化などが検出される。また、siRNA の導入による遺伝子発現抑制実験も可能である。

東北大学生命科学研究科 加齢医学研究所 渡邊裕二先生・仲村春和先生 提供
Development, Volume 127, Issue 5, Pages 1131-1140, March 2000 参考

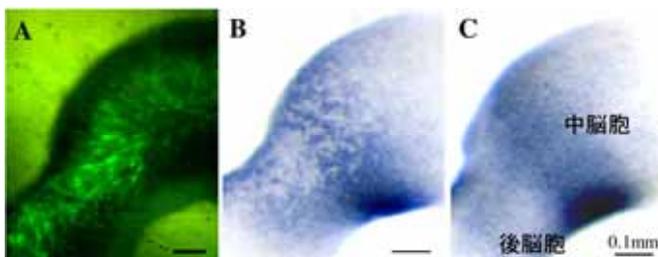
エレクトロポレーション法を用いたニワトリ胚での siRNA による遺伝子機能阻害法 [文献 2]



(A) プラズミド液を神経管内に吹き入れ、電極を卵黄膜の上に置く。25V、50msec/sec の矩形波を 4 回流す。

(B) 転写によってヘアピン型 siRNA (shRNA) が形成される配列をデザインし、U6 プロモーターや H1 プロモーターを持つ発現ベクターに組み込む。当研究室では、マウスの U6 プロモーターを持つベクターを用いているが、ニワトリ胚でも効果がある。

(C) 転写後、ヘアピン部分が消化され、siRNA となり RISC (RNA induced silencing complex) を形成し、標的遺伝子の mRNA を分解する。



エレクトロポレーション後 24 時間

(A) 導入効率を共導入した GFP により検出。

(B) En2 に対する shRNA を設計。in situ hybridization によって mRNA の分解を検出した。

(C) En2 の正常な発現。

エレクトロポレーション法と siRNA 法を組み合わせることで、簡便な遺伝子の機能阻害法を実現できる。

東北大学生命科学研究科 加齢医学研究所 仲村春和先生・片平立矢先生 提供
Mechanisms of Development, Volume 121, Issue 9, Pages 1137-1143, September 2004 参考

アプリケーション (CUY21EDIT・CUY21SC)

ニワトリ初期胚(原腸陥入胚)への遺伝子導入 [文献 3]

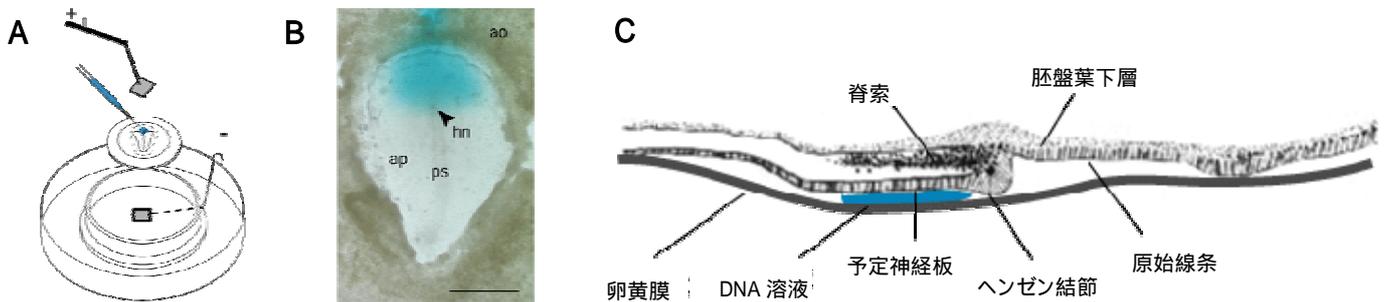


図 A: New カルチャーエレクトロポレーションの模式図

図 B: DNA 溶液 (FastGreen により青緑色がついている) をステージ 4 ニワトリ胚の予定神経板領域に注入したところ。hn:ヘンゼン結節、ps:原始線条、ao:area opaca、ap:area pellucida

図 C: DNA 溶液のインジェクションの模式図 卵黄膜と予定神経板の隙間に注入する。

プロトコール

濾紙リングに胚を貼り付け、卵より取り出す。

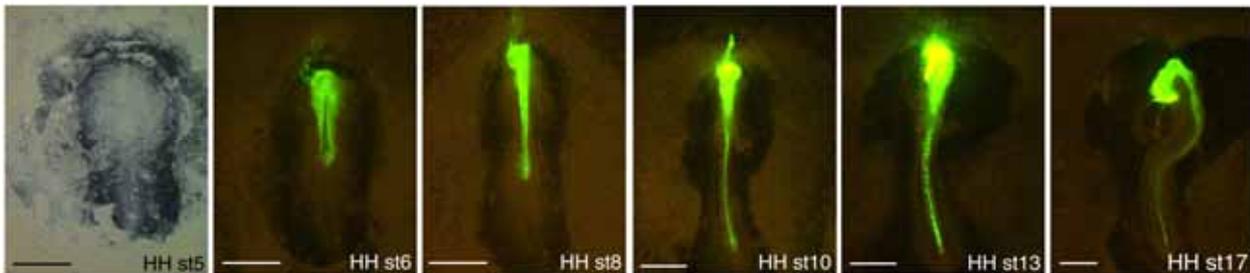
余分な卵黄を洗い、陰極チャンバーのプラットフォーム上に静置する。

ガラスニードルを用いて DNA 溶液を卵黄膜と外胚葉の隙間に注入する (外胚葉系組織に導入する場合)。

標的部位を陰極板上に設置し、陽極をその上に設置する (電極間は 5mm)。

設定電圧 10V、パルス時間 50ms、パルス間隔 100ms、回数 5 回のパルスをかける。

卵白寒天プレート上に移し、39 で培養する。

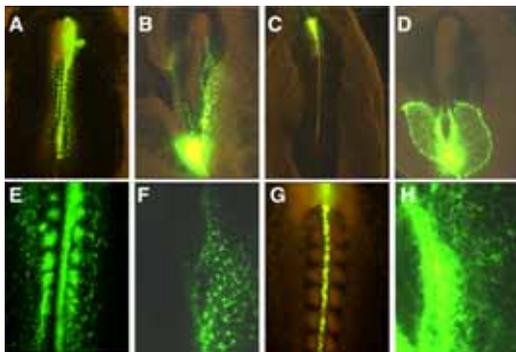


ステージ 6 (約 5 時間後) には、神経板上に GFP の発現が観察され、その後ほぼ中枢神経系の全域にわたって強い発現が観察された。スケールバー: 1mm

エレクトロポレーション後の導入遺伝子の発現

プロトコールの条件でステージ 4 の予定神経板領域に GFP 遺伝子を導入し、蛍光実体顕微鏡下で経時的にステージ 17 (約 34 時間後) まで観察した例を示す。

導入された GFP 遺伝子は、エレクトロポレーション後約 3 時間頃より発現が観察され、中枢神経系と頭部表皮に強く発現していた。さらに、標的領域における陽性細胞を定量したところ、約 80% 以上の細胞が発現していた。



他の部位への導入

ニワトリ胚の予定運命地図に基づいて、導入時期、導入部位、電極の設置部位を変えることにより、体節、血球系、側板、脊索などに発現させることが可能である。

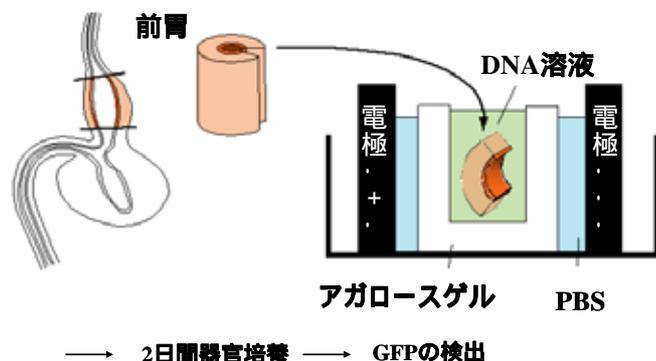
A: 体節、B: 血球系、C: 脊索、D: 側板

E~H: A~D の拡大した例

熊本大学発生医学研究センター 形態形成分野 嶋村健児先生 提供
メディカル・ドゥ社「図・写真で観る発生・再生実験マニュアル」転載

アプリケーション (CUY21EDIT・CUY21SC)

エレクトロポレーション法によるニワトリ胚消化器官への遺伝子導入 [文献 4]

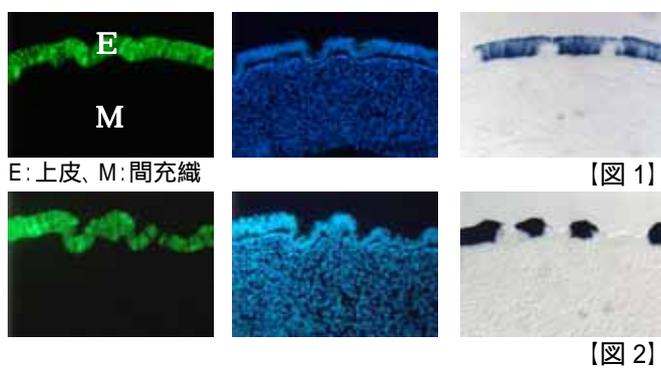


ウェッセルの刃の片方を前胃の内腔に挿入し、切開し PBS(-)に移す。

ゲルを電極におさまるように適当な大きさに剃刀で切り、PBS(-)に浸しておく。

ゲルを電極に納め、周囲を PBS(-)で満たす。ウェルの内側の PBS(-)をピペットマン(P200)で丁寧に吸い取って除き、プラスミド DNA 溶液(12~15 μ l)で満たす。前胃を上皮が陰極に向くようにして入れる。

設定電圧 30V、パルス時間 50ms の電圧を、75ms の間隔で 15 回掛ける。ただちにゲルを取り出し、小シャーレに入れたタイロッド液で濯ぐ。前胃を取り出し、新たなタイロッド液に移す。



胃腺形成のメカニズムを研究するために、上皮細胞に種々の遺伝子を導入し、その機能解析を行っている。ここでは、その対照実験として、5.5日胚前胃の上皮に、GFP 発現ベクターをエレクトロポレーション法で導入した例を示す。

2 日間培養後、導入した遺伝子(GFP)の発現が上皮のみに見られる。上皮の陥入が始まり、cSP 遺伝子の発現が消失し始めている[図 1]。3 日間培養後、胃腺が形成され、内腔上皮で cSP 遺伝子が正常に発現していることから、エレクトロポレーション法による異常がないことが分かる[図 2]。GFP は内腔上皮でも腺上皮でも発現している。

首都大学東京 都市教養学部 理工学系 生命科学コース 発生プログラム研究室 八杉貞雄先生 提供

アフリカツメガエル胚神経板期予定眼領域へのエレクトロポレーション [文献 5]

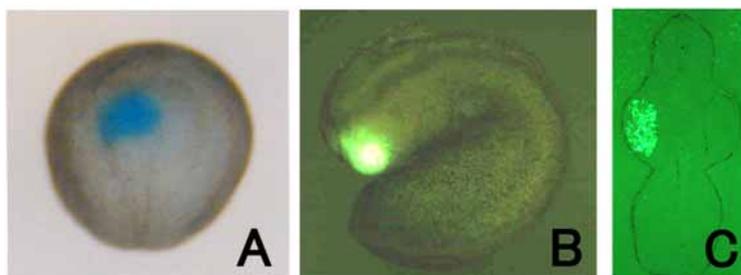
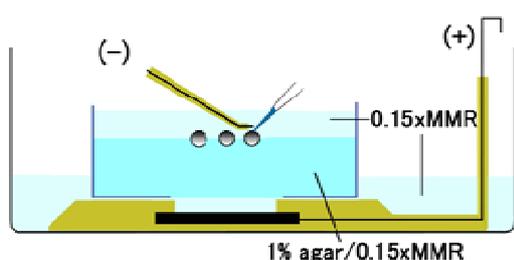


図 1 の様な配置・条件下で、ピテリン膜が付いたままのアフリカツメガエル胚神経板期(ステージ 12~13)の左予定眼領域に GFP-mRNA(1 μ g/ μ l, 0.05%ファストグリーンを含む)を 5~10nl 微注入し、直ちにエレクトロポレーション(20-22V, 5msecON, 95msecOFF, 10 shocks)を行った。

エレクトロポレーション直後は、図 A の様にファストグリーンによって導入位置(左眼予定域)が確認できた(10分程度でこの色素は拡散し消失した)。15~20 時間後には図 B の様に左眼に GFP 蛍光が強く観察された。胚頭部切片の FITC 免疫抗体染色法(図 C)によって GFP タンパクが眼胞で局所発現していることが確認できた。

本方法では BMP や Shh などの mRNA を局所導入することで下流マーカー遺伝子発現の増大/減少および眼の形態形成異常が観察できた。

名古屋大学アイソトープ総合センター 竹島一仁先生 提供
genesis, Volume 33, Issue 2, Pages 81-85, June 2002 参考

アプリケーション (CUY21EDIT・CUY21SC)

エレクトロポレーション法による子宮内胎仔脳への遺伝子導入 [文献 6]

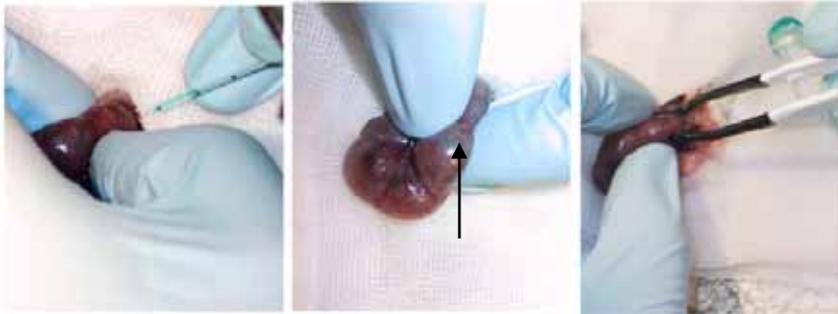


図 1. 子宮内マウス胎仔に対するエレクトロポレーション法の実験手順
プラスミド溶液を注入する。
注入後の胎仔、両側の側脳室が Fast Green で満たされている ()。
電気パルスを与える。

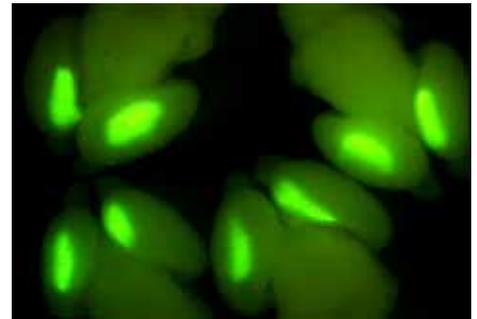
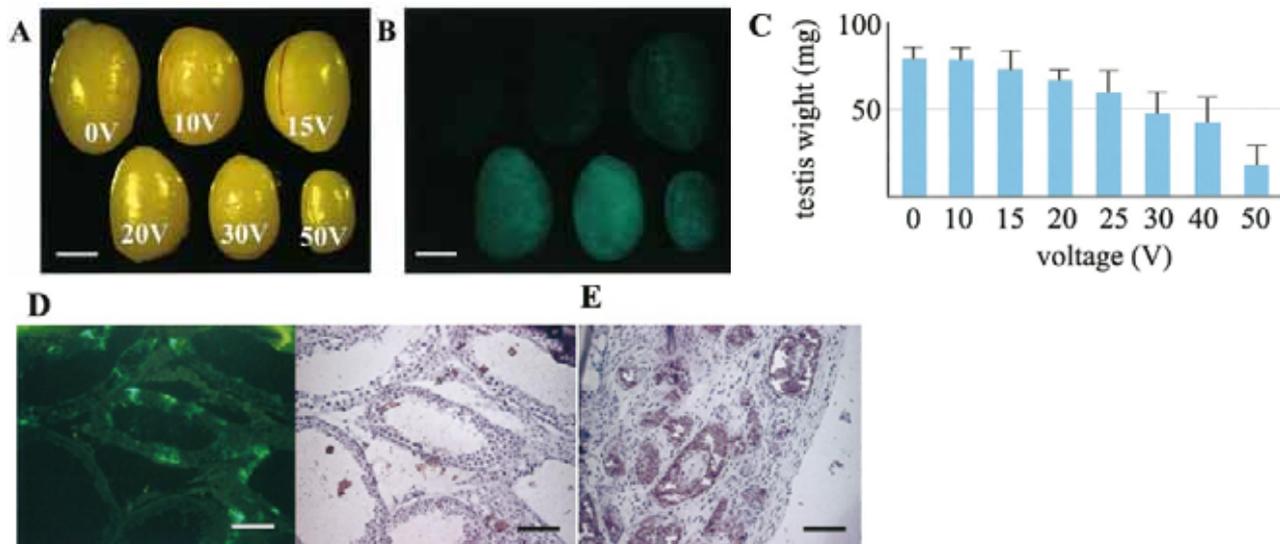


図 2. GFP 発現ベクターを導入した例
胎生 14.5 日胚に CAG-EGFP プラスミドを
両半球の側脳室へ注入しエレクトロポ
レーション法を行った。これを胎生 17.5 日
で固定して脳を取り出し蛍光の実体顕
鏡で観察した。

慶応義塾大学医学部解剖学教室 田畑秀典先生・仲嶋一範先生 提供
羊土社「必ず上手いく遺伝子導入と発現解析プロトコール」転載

マウス精巣への遺伝子導入及び電圧変化による GFP 発現 [文献 7]



実体顕微鏡により撮影した精巣の画像。様々な電圧で精巣に遺伝子導入を行ない、5週間後に可視光(図 A)と励起光(図 B)で観察を行なった。図 A の各々の精巣には、出力された電圧が表示されています。

図 C: 精巣(12 日目)に様々な電圧で遺伝子導入を行なってから 5 週間後の重量の変化を示しています。

図 D: 50V で遺伝子導入を行なった精巣の断面図

図 D(左): 励起光下での蛍光顕微鏡の画像。 図 D(右): ヘマトキシリンによる対比染色。

図 E: 別の断面のヘマトキシリンによる染色。

精巣に高電圧で遺伝子導入をおこなった場合、精細管の管腔の拡張(図 D)や被膜下の精細管の完全な変性(図 D 左)が観察された。図 E では、多くの蛍光陽性なセルトリ細胞が容易に確認出来ました。

図(A, B)スケールバー: 2mm、図(D, E)スケールバー: 100 μm

武庫川女子大学 バイオサイエンス研究所 細胞生命解析学部門 蓬田健太郎先生 提供
BIOLOGY of REPRODUCTION, Volume 67, Issue 3, Pages 712-717, September 2002 参考

アプリケーション (CUY21EDIT・CUY21SC)

エレクトロポレーション法による成体ラット脳への遺伝子導入 [文献 8]

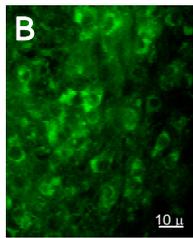
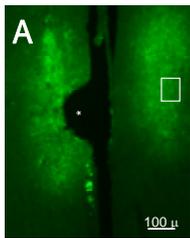


図 A: 10 週齢雌ラットの(左右)内側視索前核へのエレクトロポレーション 4 日後の GFP 発現蛍光画像
(*印は電極の一部が存在した位置を示す。)

図 B: 図 A の強拡大画像(対物 60×レンズ)
GFP シグナルは主として細胞体の核周囲部に認められる。

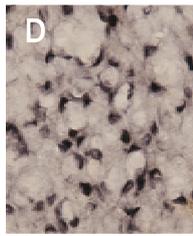
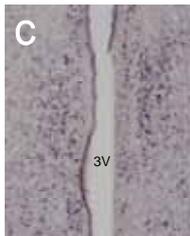


図 C: 免疫染色により内側視索前核ならびに視索前野室周囲核に存在するエストロゲン 受容体を染色
3V は第三脳室

図 D: 図 C の強拡大画像(対物 60×レンズ)
エストロゲン 受容体シグナルは主に細胞核に認められる。

北海道大学病院 高次口腔医療センター 白川哲夫先生 提供

全胚培養法と電気穿孔法による哺乳類胚への遺伝子導入 [文献 9]

実験手順

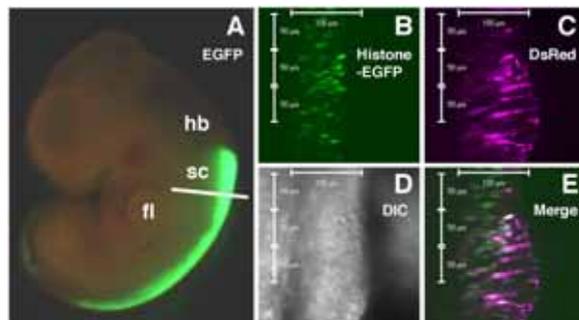
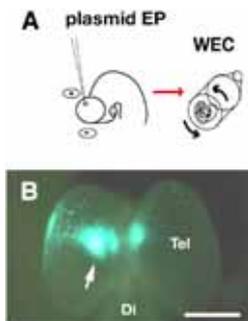
電気穿孔を行う 1.5~2 時間前から全胚培養系を用いて哺乳類胚を培養する。

生理食塩水を満たしたシャーレに胚を移す。

微小ガラス針を用いて 0.5~1μl のプラスミド DNA を脳室内に注入する。

エレクトロポレーター (CUY21) と電極 (チャンバー型もしくはピンセット型) を用いて電気穿孔を行う。胎齢 10.5 日マウス胚の場合、70V、50ms の電気パルスを 5 回かける。

胚を再び全胚培養系にて 24~48 時間行う。



培養ラット胚終脳への蛍光タンパク質遺伝子の導入

(A)電気穿孔法を用いて、胎齢 11.5 日のラット胚終脳に EGFP 遺伝子を導入後、全胚培養系にて胚の培養を行った。

(B)培養 48 時間後、終脳背側特異的に GFP 遺伝子が導入されていることが観察された。

Tel: 終脳、D: 間脳

培養ラット胚脊髄神経管への蛍光タンパク質遺伝子の導入

(A)電気穿孔法によって、胎齢 12.5 日のラット胚脊髄神経管に EGFP 遺伝子を導入し、24 時間全胚培養した。脊髄原基に EGFP の蛍光が観察された。

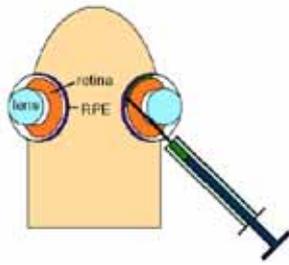
(B-E)スライス培養タイプラプス観察への応用例を示している。電気穿孔法により、胎齢 12.0 日のラット胚脊髄神経管に Histon-EGFP 融合遺伝子と DsRed 遺伝子を共導入後、12 時間全胚培養し、直ちにスライス培養とタイプラプス観察を行なった。神経上皮細胞の核 (B、緑) および細胞の形 (C、マゼンダ) が同時に (E) 可視化されている。(D) は透過光微分干渉像

hb: 菱脳、sc: 脊髄、fl: 前肢、DIC: 微分干渉像

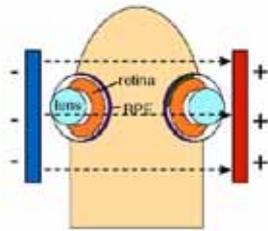
東北大学大学院医学系研究科附属創生応用医学研究センター 形態形成解析分野 高橋将文先生・野村真先生・大隅典子先生 提供
Differentiation, Volume 70, Issue 4-5, Pages 155-162, June 2002 参考

アプリケーション (CUY21EDIT・CUY21SC)

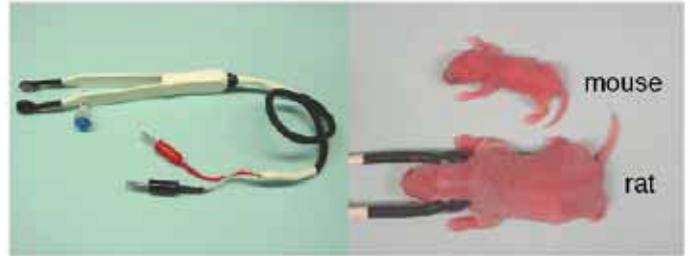
マウス・ラット網膜への In Vivo エレクトロポレーション [文献 10]



網膜下へ DNA の注入

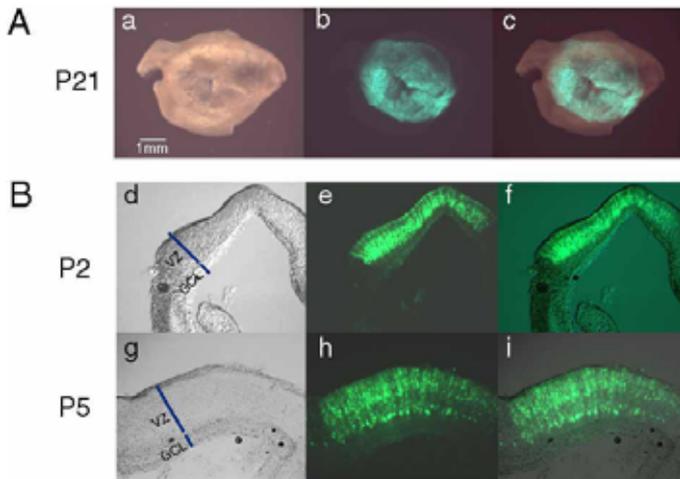


エレクトロポレーション



ピンセット電極

ラットをピンセット電極でホールド



様々な発生ステージで採取したラットの網膜へのエレクトロポレーション法による遺伝子導入。

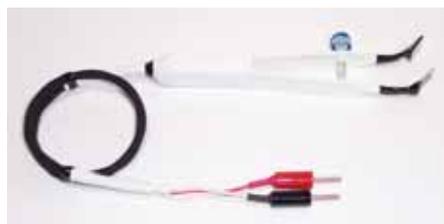
図 A: P0 で pCAG-GFP を網膜に導入して、P21 (a~c) で採取。強膜側から撮影。

図 B: P0 で pCAG-GFP を網膜に導入して、以下のステージで採取。

P2 (d~f)、P5 (g~i)

Cepko laboratory, Department of Genetics and Howard Hughes Medical Institute, Harvard Medical School 松田孝彦先生 提供

エレクトロポレーション法による成体マウス皮膚への遺伝子導入 [文献 11]



S ピンセットフォーク 3 針 & 長方形電極
5mm × 10mm (CUY663-5X10)
スクエア式遺伝子導入装置 CUY21EDIT

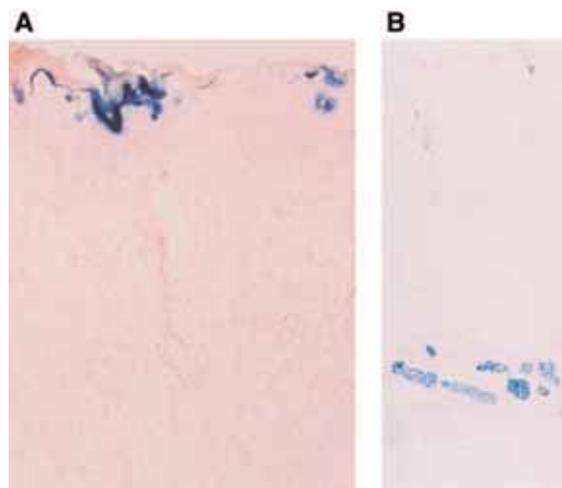


図 A: 上皮細胞 (角質・顆粒・有棘細胞) での発現
エレクトロポレーション (電圧 18V) 後、1 日目 倍率: × 250

図 B: 皮下筋層での発現
エレクトロポレーション (電圧 18V) 後、7 日目 倍率: × 70

新潟大学大学院医歯学総合研究科 腎医学医療センター寄附講座 丸山弘樹先生 提供

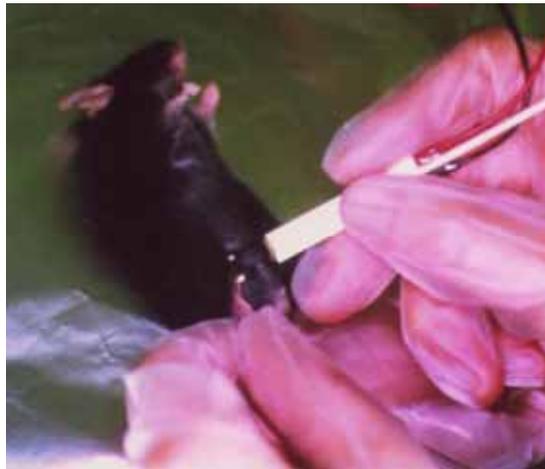
Epidermal Cells Methods and Protocols, Series: Methods in Molecular Biology, Volume 289, Pages 431-436, October 2004 参考

アプリケーション (CUY21EDIT・CUY21SC)

エレクトロポレーション法による筋肉への遺伝子導入 [文献 12]



筋肉内への DNA 注射

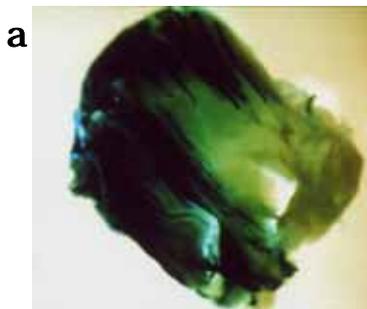


In Vivo エレクトロポレーション

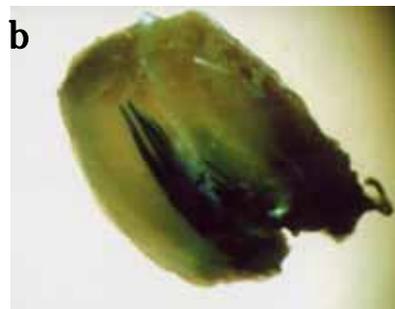
パルス発生装置ならびに電極
電気パルスは、パルス発生装置
CUY21EDIT: ネッパジーン(株)を
用いて発生させた。電極は電
極幅が 3mm あるいは 5mm に固
定された、直径 0.4mm (27G 相
当) の平行な 2 本のステンレス
針からなる針型電極を用いた。
これもネッパジーン(株)から入手
可能である。

プロトコール

マウスに 0.01ml/g の割合で、6mg/ml のペントバルビタールナトリウム液を腹腔内投与し、麻酔する。
生理食塩水に溶解した発現プラスミド 50 μ g (濃度 1.5 μ g/ml) をインスリンシリンジ (27 ゲージ針) に移す。
この DNA をマウスの下腿部筋肉 (前脛骨筋) に筋注する。
その後直ちに、DNA 筋注部位を挟むように、5mm 間隔の一对の針電極 (27 ゲージ) を筋肉内に挿入し、50ms の電気パルスを 1 パルス / 秒の割合で 3 パルス、さらに逆方向に 3 パルス与える。
プラスミド発現の範囲を調べるために、pCAGGS-lacZ を導入したマウスについて、導入 5 日後の組織切片を X-gal で染色する。
注) マウスの前脛骨筋は小さいので、注射できる容量は 50 μ l までである。



筋肉全体 (エレクトロポレーション後)



筋肉全体 (エレクトロポレーションなし)



凍結切片 (エレクトロポレーション後)



凍結切片 (エレクトロポレーションなし)

X-gal 染色

発現の範囲を調べるために、ガラクトシダーゼ発現プラスミド pCAGGS-lacZ を同様の方法で筋肉に導入した。筋注の 2 日後に、前脛骨筋を摘出し、ドライアイスアセトンで OCT コンパウンドに包埋した後、クリオスタットで 15 μ m の切片を作製し、APS* でコートしたスライドグラスにはりつけた。これを 1.5% のグルタルアルデヒドで室温、10 分固定した後、PBS で 3 回洗浄した。そして、1mM の X-gal を 37 $^{\circ}$ C、3 時間反応させた後に再び洗浄し、エオジンで対比染色を行った。その結果、多くの筋線維で発現していることが示された。エレクトロポレーションなしでは、ほとんど染色される細胞は認められなかった。

*3-amino-propyltriethoxysilane

大阪大学大学院医学系研究科 幹細胞制御分野 宮崎純一先生 提供
nature biotechnology, Volume 16, Number 9, Pages 867-870, September 1998 参考

アプリケーション (CUY21EDIT・CUY21SC)

エレクトロレーション法と抗癌剤(プレオマイシン)併用による軟骨肉腫への電気化学療法の臨床治験 [文献 13]



図 a) 中指の基節部が軟骨肉腫により膨らんでいます。(初診時)

図 b) 図 a の X 線写真。(電気化学療法前)

図 c) 電気化学療法後に腫瘍切除、骨移植しました。(電気化学療法後 3 年)

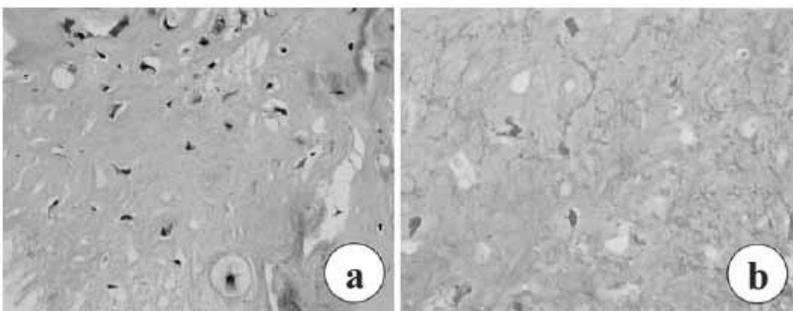


図 a) 電気化学療法前の生検標本

図 b) 電気化学療法後 2 週間の生検標本 (90%の腫瘍細胞壊死)

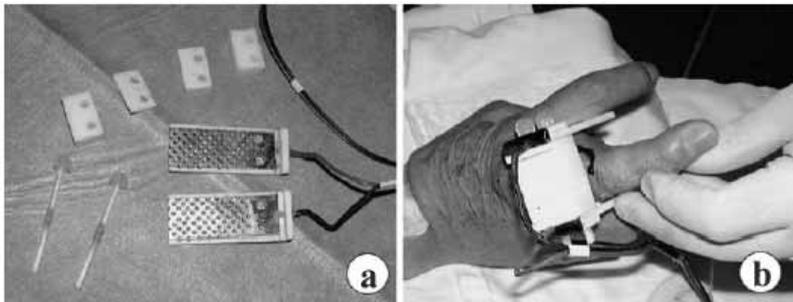


図 a) 使用電極(ステンレス製:3cm x 5cm)

図 b) 電極を 2 枚平行に設置してエレクトロレーション

電極間の抵抗値: 245 ± 101

設定電圧: 150V (電場強度 50V/cm)

実行電流値: $1.1 \pm 0.5A$

回数: 4 回 (パルス時間 50ms, パルス間隔 200ms) 又は、6 回 (パルス時間 50ms, パルス間隔 117ms)

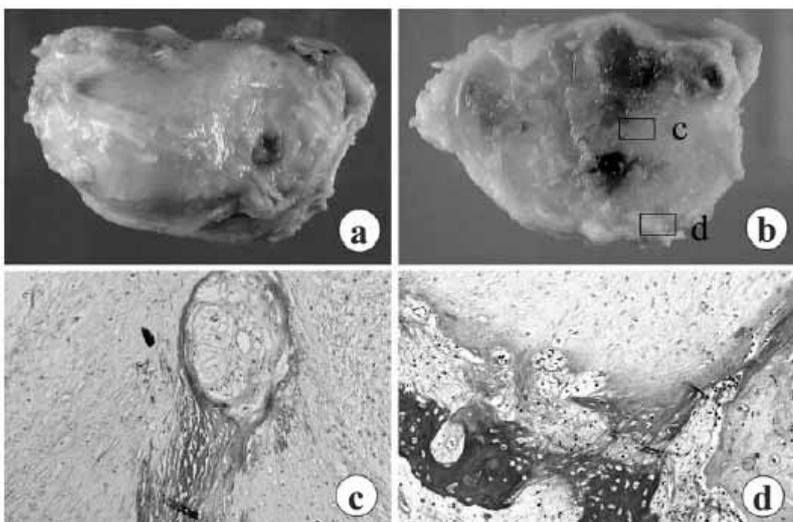


図 a) 切除した腫瘍

図 b) 腫瘍の断面

図 c) 図 b の c 領域の顕微鏡写真 (腫瘍の中心部)

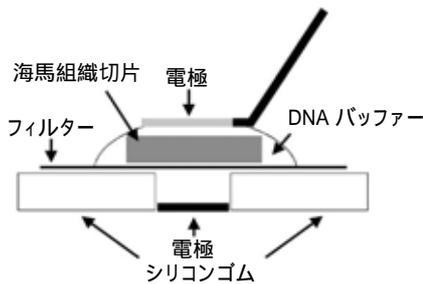
図 d) 図 b の d 領域の顕微鏡写真

切除された腫瘍の組織学的調査は、腫瘍壊死を示しました。

信州大学医学部整形外科 清水富永先生、富山大学医学部再生医学講座 二階堂敏雄先生 提供
Journal of Orthopaedic Science, Volume 8, Number 2, Pages 248-251, March 2003 参考

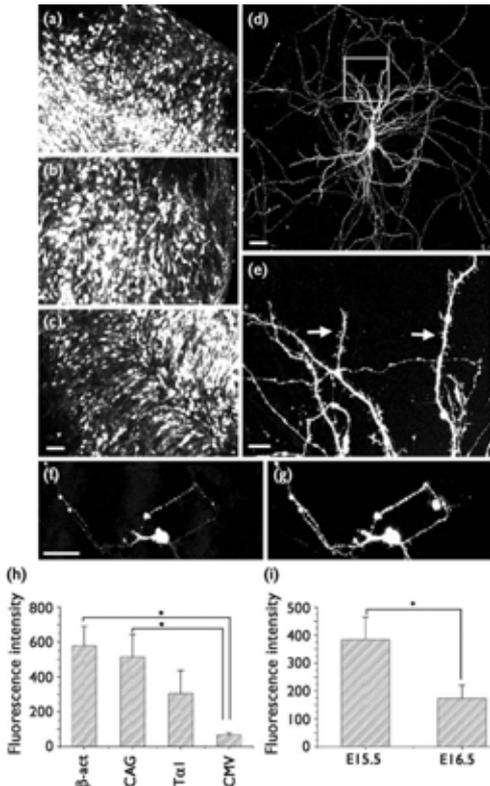
アプリケーション (CUY21EDIT・CUY21SC)

エレクトロポレーション法による海馬組織切片への遺伝子導入 [文献 14]



エレクトロポレーションのセットアップ略図

マウス胎児の海馬切片をミリポアフィルター上に置き、DNA バッファー5 μ l (DNA 濃度: 1 μ g/ μ l) を海馬切片の上から滴下します。ニードル白金電極 (CUY611P3-1) を DNA バッファー表面に接触させます。エレクトロポレーション後、海馬切片を冷たい HBSS 溶液の入ったシャーレに戻します。



エレクトロポレーション法による海馬ニューロンの蛍光タンパク質発現

図(a~c)、エレクトロポレーション後 3 日目の器官培養した海馬組織切片の eGFP 発現 (使用したプロモーター a: CAG, b: T 1, c: -actin)

図(d, e)、成長した海馬ニューロンは、エレクトロポレーション後培養され 14 日間に渡り eGFP 発現 (-actin) が維持されました。

図(d)の四角領域を拡大したものが図(e)で、樹状突起の矢印部分に樹状突起スパインが見られます。

図(f, g)、T 1X4-eGFP と T 1X4-mRFP1 を 1 対 1 の割合で混合して、エレクトロポレーション後 7 日目の海馬ニューロン。

単一細胞の中で、eGFP 蛍光(f)と mRFP1 蛍光(g)の両方を観察することができます。

図(h)、4 つの異なるプロモーター配列 (-actin, CAG, T 1, CMV) を有する eGFP 発現プラスミドにおけるエレクトロポレーション後の海馬組織切片の蛍光強度の比較。

組織切片は 4 日間培養後に固定され、共焦点顕微鏡を使用し蛍光強度を測定しました。(単位領域ごとに)

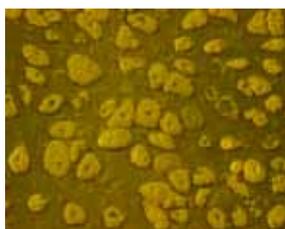
図(i)、2 つの異なる発育ステージ (E15.5, E16.5) におけるエレクトロポレーション後の海馬組織切片の蛍光強度の比較。

組織切片は 4 日間培養後に固定され、共焦点顕微鏡を使用し蛍光強度を測定しました。

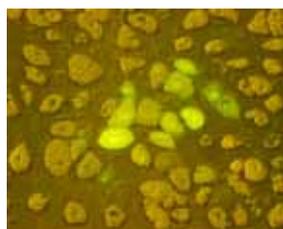
図(a~d, f, g)スケールバー: 50 μ m、図(e)スケールバー: 10 μ m

東京医科歯科大学 医歯学総合研究科 細胞生物学 岡部繁男先生 提供
Neuroreport, Volume 15, Issue 6, Pages 971-975, April 29, 2004 参考

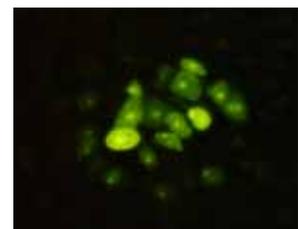
エレクトロポレーション法によるシングルセル(単一細胞)への遺伝子導入 [文献 15]



明視野画像



蛍光と明視野の重ね合わせ画像



蛍光画像

ラット内臓脂肪細胞に蛍光色素ルシファーイエローを導入

(株)ジェネティックラボ 提供

アプリケーション (CUY21EDIT・CUY21SC)

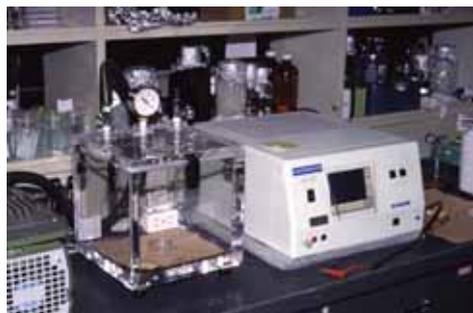
エレクトロポレーションによる植物種子への遺伝子直接導入 [文献 16]

減圧処理を施した完熟種子に直接遺伝子を導入
外資系企業等の特許に抵触しない新手法の開発

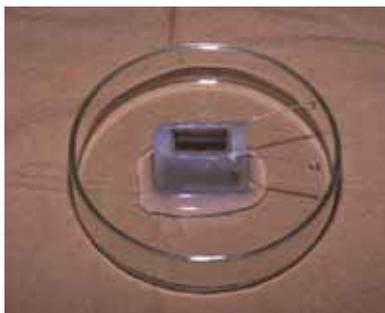
完熟種子の吸水
DNAを含むバッファーに浸す

バッファーに浸したまま減圧処理
低温下でエレクトロポレーション
低温下で短期間養生
植物の生育適温で養生
薬剤等による選抜

図 1. エレクトロポレーション装置と電極(ネッパジーン社製)



装置: CUY21EDIT



チャンバー: CUY495P10



冷却しながらエレクトロポレーション

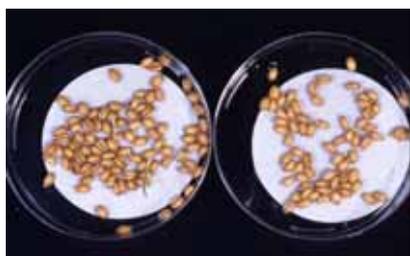
イネ種子と難培養性作物として知られるコムギの種子に遺伝子導入(*npt*)を行い、両者共に種子稔性のある形質転換植物体を作成した。*npt* 遺伝子の存在はサザン法で確認した。また導入した遺伝子の次世代(T_1)への伝達も PCR 法で確認した。その他の植物種やカイコの卵についても遺伝子の一時的発現を確認した。

種子さえあれば実験が開始できる。
短期間で組換え体を作成できる。
組織培養が不要である。
動物や微生物への適用の可能性もある。

図 2. コムギ形質転換植物体の作出



GUS 遺伝子の発現



ジェネティシンによる選択



形質転換植物体

図 3. GUS 遺伝子の一時的発現



イネ(ジャポニカ)



イネ(インディカ)

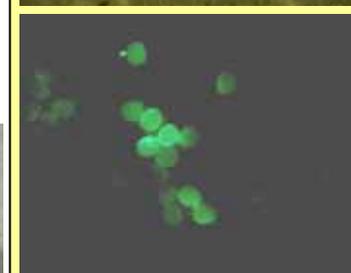


ハクサイ



ダイズ

図 4. カイコ卵への遺伝子導入

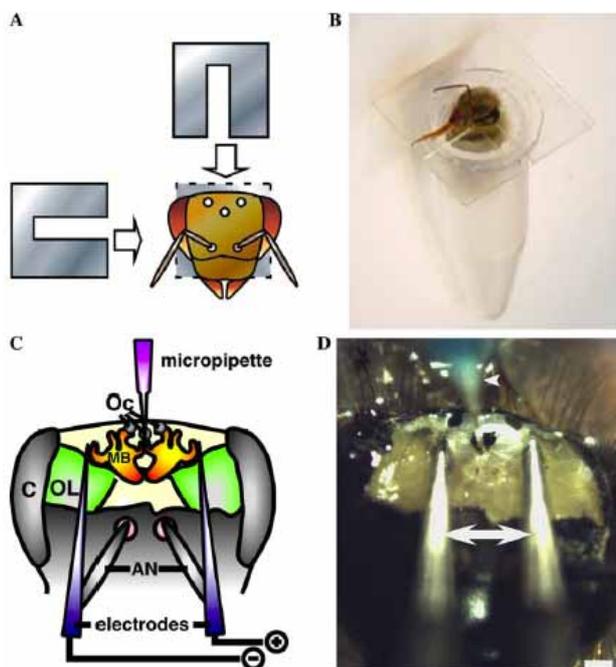


GFP 遺伝子の発現
(蛍光照明)

農業生物資源研究所 植物科学研究領域 遺伝子組換え技術研究ユニット 萩尾高志先生 提供

アプリケーション (CUY21EDIT・CUY21SC)

エレクトロポレーション法による成体ミツバチ脳への In Vivo 遺伝子導入 [文献 17]



In vivo エレクトロポレーション.

(A) 首の固定

ミツバチ成虫を氷冷麻酔し、チューブ中に差し込んだ後、2枚のU字型のプラスチック板を差し込んで首を固定する。

(B) ミツバチの保定

プラスチック板をチューブに接着し、ミツバチを外科手術可能な状態でチューブ中に保定する。この状態で顕微鏡下、頭部クチクラを切除し内部を露出させる。

(C) ミツバチ頭部へのマイクロピペットと電極の模式図

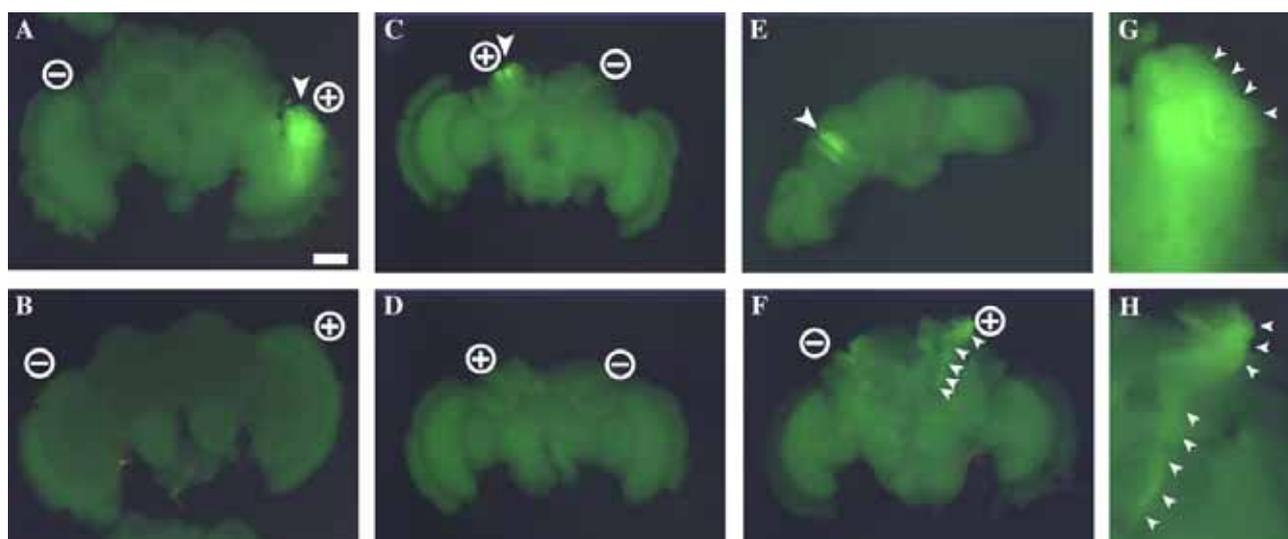
電極はキノコ体をはさむように置き、その中央に DNA 溶液を満たしたマイクロピペットを挿入する。DNA は浸透圧をあわせたミツバチ用リンゲル液に溶解する。

AN: 触角, C: 複眼, MB: キノコ体, Oc: 個眼, OL: 視葉

(D) エレクトロポレーションによる遺伝子導入

脳室が無いため注入された DNA 溶液は脳を包むように拡散していく。そこで注入が終わると同時に CUY21EDIT により 50V, 50msec/sec の矩形波を与える。

スケールバー: 300 μ m



視葉 (A, B) もしくはキノコ体 (C-F) に CMV-GFP を導入したミツバチ脳の蛍光像

CMV-GFP プラスミドを導入したミツバチ脳において、蛍光は陽極を置いた位置の近辺に観察された (A, C, E, F)。

生理食塩水だけでエレクトロポレーションを行った場合には、同様なシグナルは認められなかった (B, D)。

(A) および(F) の蛍光像について拡大図をそれぞれ(G), (H) に示す。

図中の +、- は各電極の位置を示す。やじりで観察された蛍光の位置を示す。(F, H) についてはキノコ体細胞からの投射パターンが観察される。(A, B, F, G, H) は前から、(C, D) は後から、(E) は上から見た図。(C) と (E) は同一個体の脳を異なる方向から観察したもの。

東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻 細胞生理化学研究室 國枝武和先生、久保健雄先生 提供

Biochemical and Biophysical Research Communications, Volume 318, Issue 1, Pages 25-31, May 21, 2004 参考