

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 8 月 17 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H01068

研究課題名(和文) オートファジー抑制とシナジー効果促進による第三世代プラズマ遺伝子導入法の確立

研究課題名(英文) Establishment of the third generation plasma gene introduction method by suppressing autophagy and by enhancing synergistic effect

研究代表者

神野 雅文 (JINNO, MASAFUMI)

愛媛大学・理工学研究科(工学系)・教授

研究者番号：30274335

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,300,000円

研究成果の概要(和文)：プラズマ遺伝子・分子導入の機序解明を進めた結果、プラズマ刺激なしでエンドサイトーシス促進剤により単にエンドサイトーシスを引き起こすだけでは、遺伝子の導入はほとんど生じないことからプラズマは単にエンドサイトーシスを惹起しているだけでなく、プラスミドの膜付着を促進していることが示唆された。また、ウェル上の細胞群を等価回路網モデルで表現し回路解析を行った結果、電流が電気的な刺激の主要因であることが示唆された。

本研究により、細胞帯電によるプラスミドと細胞の衝突プロセスの促進、電流と活性酸素種の複合刺激によるエンドサイトーシスの惹起の2段階のプロセスでプラズマ遺伝子導入が生じているとの結論に至った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

プラズマ遺伝子・分子導入法の機序解明が進み、プラズマの必要性とエンドサイトーシスでの分子取り込みに必要なプラズマの作用要因が明確になった。特に、電気的要因として電流が主要であることが示唆されたことは意義が大きい。

また、社会的には、従来法とは異なり、細胞へのダメージが小さくかつ効率良く導入を行えるプラズマ法の機序解明が進んだことで、実用へ大きく近づくことが出来た。

研究成果の概要(英文)：The results suggest that plasma does not only induce endocytosis but also promotes membrane attachment of plasmids since the mere induction of endocytosis by endocytosis-promoting agents without plasma stimulation hardly results in gene transfer. The results of the circuit analysis using an equivalent network model of the cell population in the well suggested that the electric current is the main factor of electrical stimulation.

We conclude that plasma gene transfer occurs in a two-step process: the acceleration of the plasmid-cell collision process by cell charging and the induction of endocytosis by the combined stimulation of electric current and reactive oxygen species.

研究分野：プラズマ理工学

キーワード：プラズマ遺伝子導入 プラズマ分子導入 プラズマライフサイエンス エンドサイトーシス 複合効果  
低侵襲 非侵襲 ランダムインテグレーション

1. 研究開始当初の背景

(1) 本研究に関連する国内・国外の研究動向及び位置づけ

＜第一世代＞ プラズマ照射により細胞に遺伝子や分子を導入できることは研究協力者の佐藤らによって2002年に知財化された後[5]、論文として報告されている[6,7]。これに続き国内外の他の研究グループにより大気圧グロー放電を用いてデキストラン分子を導入した例[8]や、マウスの皮膚にプラズマを照射し、プラスミドが経皮吸収されること[9]や、プラズマ照射による蛍光色素 YOYO-1 の導入や Ca イオンの関与の可能性なども報告されている[10]。



図1. プラズマ遺伝子導入の導入機序概念図

申請者らは佐藤らと早くからプラズマを用いた遺伝子導入の研究を進めてきた。初期のフレア型アーク放電プラズマでは均一性が保てず、高い導入効率を得られるものの細胞死の抑制と導入効率の向上を両立できなかった。続いてプラズマジェット、DBDと電子温度を下げたプラズマを試したが、この問題は解決できなかった。

＜第二世代＞ これらを踏まえ、マイクロキャピラリー電極を用いてプラズマの空間的および時間的な揺動を限定することで、細胞死をほぼゼロに抑えつつ高い遺伝子導入率を実現するという飛躍的な性能改善を実現した[1]。この手法では図1に示すようにプラズマは、電荷、電流、電界などの電気的要因と化学的反応性に富むラジカルなどの化学的要因を生じ、これらが細胞に対して電気的作用、化学的作用および生化学的作用を引き起こしていると考え、申請者らは機序解明にも取り組んできた。これまでに、活性種とプラスミドをPBSで洗い流して化学的要因を無効化することで、プラズマ照射後の長時間作用する要因が主要因であることを解明し[2]、レーザ生成プラズマを照射した場合は外部電界が無い場合電気的要因が無効化され活性種等の化学的要因のみが有効であるにもかかわらず遺伝子が導入されないことから、化学的要因単独では遺伝子を導入できず両要因のシナジー効果(相乗効果)が必須であり、それこそがプラズマ遺伝子導入法の利点であることを明らかにし、さらに、具体的な導入プロセスではエンドサイトーシスが支配的であることも示した[4]。

＜第三世代＞ 現在、研究はプラズマ遺伝子/分子導入の機序、特にシナジー効果の機序を解明し、また、導入(膜透過)と機能発現を分離し、それぞれをプラズマで促進する新たなアプローチが必要な段階にある。

(2) 着想に至った経緯 (テララーメイド遺伝子導入のためのシナジー効果の解明と導入と発現の制御法確立)

申請者らはマイクロキャピラリー電極により飛躍的な性能改善を達成し、低侵襲で高効率な第二世代のプラズマ遺伝子導入法を実現した[1,2]。そして遺伝子の導入要因として「電界、電荷などの電気的要因」、「プラズマが生成する反応種等の化学的要因」があり、両者のシナジー効果(相乗効果)が必須であること[4]、最大導入効率を得られる条件が細胞により異なることを見いだした[3]。これらの結果から、プラズマと細胞懸濁液を制御することで導入要因の強さとバランスを制御し、これにより電気的、化学的、生化学的作用の強度とバランスを制御し、標的細胞に最適なテララーメイドなプラズマ遺伝子導入が可能であるとの着想を得た。他方、遺伝子導入に際して各作用がそれぞれどのように働き、細胞内シグナルおよび細胞膜の形態変化が生起されるのかを解明する必要があるが、支配的な導入プロセスがエンドサイトーシスであることを示す実験結果を得た[4]ことから、細胞膜を通過した遺伝子は脂質二重膜に包まれた小胞体として細胞内に取り込まれることが解る。この小胞体は細胞外から

の異物であるため、通常はオートファジーにより分解されてしまう。従って、「遺伝子導入」が成立するためにはエンドサイトーシスで細胞膜を透過した後形成した小胞体内の遺伝子がオートファジーで分解される前に機能発現する必要がある。

## 2. 研究の目的

申請者は、遺伝子導入をこれらの二つの「膜透過」と「機能発現」のプロセスに分けて考え、それぞれのプロセスの効率をプラズマの最適化(もしくは薬剤併用)により改善する**第三世代のプラズマ遺伝子導入法**という着想に至った。「遺伝子導入」を遺伝子の細胞膜透過と小胞体を形成した遺伝子の機能発現の二つのプロセスに分離して議論した例はないので、本提案では、各条件の網羅的な探索とプラズマの定量評価により細胞膜への電氣的、化学的および生化学的作用を明らかにし、**遺伝子の導入機序を解明するとともにシナジー効果の探求により膜透過率の改善とオートファジーの抑制により機能発現率の改善を図り、第三世代のプラズマ遺伝子導入法を開発**することを目的とする。

## 3. 研究の方法

本研究では細胞にプラズマを照射して GFP プラスミドの導入効率を評価し、**細胞へ遺伝子が導入される機序、特にシナジー効果、を解明し、オートファジーを抑制し機能発現を強化した第三世代のプラズマ遺伝子導入法を確立**する。具体的には下記の内容を軸に研究を進める。物理的、化学的要因が細胞に与える具体的なストレス(電界、酸化等)を分析し、電界、電流、活性種などの各作用を定量評価し、従来手法のエレクトロポレーション(電氣的作用：細胞穿孔)およびリポフェクション(生化学的作用：エンドサイトーシス)と比較することでプラズマを用いた遺伝子/分子導入の機序を検討する。オートファジーを試薬により制御することで導入遺伝子の発現率をコントロールし、**細胞膜透過と機能発現の各プロセスに対するプラズマの作用を定量化し、最適なプラズマ照射条件を求めるとともに、その機序を解明し第三世代のプラズマ遺伝子導入法を確立**する。

## 4. 研究成果

項目番号に \* を付した項目は当初予定していなかったが研究進捗に伴い得られた成果からあらたに実施した機序解明へのアプローチとその結果を示す。

(1)「網羅的探究による導入条件の解析」として、まず電源の駆動周波数を 2MHz まで拡張した。その結果、電極形状の最適化が必要となったが、従来主として用いていた 20kHz と同等の導入結果が得られた。その際、塩分濃度やプラスミド濃度などの諸条件についても 20kHz と 2MHz で差が見られなかった。このことから、10MHz 程度までであれば、10kHz 程度の場合と導入機序および最適パラメータおよび、作用要因には差がないものと判断し、今後は従来と同じ 20kHz を主として使用し、解析を実施するのが適切であるという結論を得た。

(2)「機序要因の定量化と機序要因が細胞に及ぼす効果の検討」については、リポソームを用いた解析でプラズマ照射によりリポソームが正に帯電することを確認した。さらに 2 種類の作用の異なるオートファジー阻害剤の効果を確認した。その結果、阻害剤の 1 つは細胞生存率は半減するものの、遺伝子の導入率は 4 倍程度に改善された。また、プラズマ照射時間を短縮しても、生存率が 30~40%低下しつつも、導入率が 3 倍以上となることが確認された。他方、もう一つの阻害剤では、細胞生存率を 10%~20%の低下にとどめつつ、導入率を 1.5 倍程度に改善出来なかつ、プラズマ照射時間を短縮できるという結果を得た。

(3) (1)と(2)の結果から、遺伝子導入率の改善にはオートファジー阻害が有効であり、プラズマ照射時間も短縮できること、およびプラズマ遺伝子導入の細胞内プロセスの解明にオートファジー阻害が有効であることが明らかになった。

(4) プラズマ遺伝子導入法について、エンドサイトーシス阻害剤(ノコダゾール)およびオートファジー阻害剤(クロロキンおよび LY-294 002)を用い細胞内の分解プロセスおよび分子運搬経路の解明と導入効率の改善効果を行った。ノコダゾールを用いた場合は、遺伝子発現率は 6 倍以上の上昇が観察された。同様に、クロロキンをを用いた場合は 1.6 倍、LY-294 002 を用いた

場合の遺伝子発現効率は1.7倍上昇した。これらの結果から、エンドサイトーシスおよびオートファジー阻害剤で処理することで、細胞内にエンドサイトーシスで取り込まれたDNAおよび小胞から細胞質に放出されたDNAの分解は抑制され、導入効率（発現効率）の上昇が達成された。しかしながら、ノコダゾールおよびクロロキンの同時処理で遺伝子導入効率の更なる上昇はなく、相加効果も相乗効果存在しないことが判った。以上の結果は、エンドサイトーシス経路の初期エンドゾームとオートファジー経路のオートファゴゾームは同様な細胞内小胞で、これらのいずれの小胞もノコダゾールにより後期エンドゾームへの移行が阻害され、引き続き起こるリソソームとの融合によるDNAの分解が抑制されている可能性を示唆している。

(5) プラズマ遺伝子導入の標的細胞の数を56種類まで増やし、細胞を線維芽細胞、扁平上皮細胞、単層立方上皮細胞、血球細胞などのグループに分類すると、それぞれのグループに対して重回帰分析を行った結果、プラズマ処理の最適時間が、細胞の倍加時間、細胞の大きさ、細胞核の大きさ、の3つの変数の線形結合で表現できることが判った。これは、倍加時間がプラズマから刺激を受けた細胞のエンドサイトーシスの起こしやすさ、細胞と核の大きさがプラズマから受ける電氣的刺激・化学的刺激への感受性を表しているものと考えられ、これまでに我々が明らかにしてきた機序と合致する結果となった。

(6) これまでの研究結果から、プラズマ遺伝子導入法の機序は、(a)プラズマ中のイオンが細胞膜に付着して正に帯電、(b)表面がマイナスのプラスミドがクーロン力で細胞表面に引き寄せられる、(c)プラズマの電氣的な刺激とプラズマの活性種による化学的な刺激により細胞に自発的取り込みのスイッチが入る、(d)クーロン力で引き寄せられ細胞表面に付着したプラスミドがエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれる、というプロセスであると考えられる。(c)については、ROS阻害剤とプラズマ生成法のコントロールにより、(d)についてはエンドサイトーシス阻害剤により、それぞれ確証を得ている。

そこで、(I)細胞膜から一定の範囲にプラスミドが入るとクーロン力で引き寄せられ膜に付着する、(II)エンドサイトーシスを惹起する電氣的および化学的刺激はプラズマにより十分に与えられており細胞膜に付着したプラスミドは一定の確率でエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれる、という仮定をすると、(a)、(b)から、プラスミドが細胞膜から一定の距離に入る確率、すなわち、プラスミドと細胞の衝突確率にプラスミドの導入率が比例する。この衝突確率は、液中のブラウン運動で説明でき、プラスミドの分子量、分子数で決まる。そこで、プラスミドの分子量や重量濃度を変化させると、図2に示す様に、予測通り導入率が衝突確率と比例する結果が得られた。このことは、これまでの実験結果から推測したプラズマ遺伝子導入の機序が正しいと示唆している。また、オートファジーの抑制による細胞内に取り込まれたプラスミドの発現確率の改善に加えて、プラスミドと細胞の衝突確率を改善すれば導入効率が改善出来ることが明らかになった。

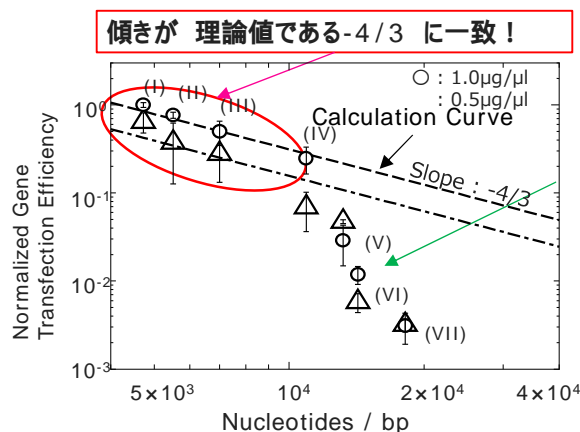


図2．導入分子量の比と遺伝子導入率の変化

\* (7) オートファジー阻害剤として使用したノコダゾールには細胞周期同調作用もあるのでエンドサイトーシスが導入プロセスであることを確認するために、細胞周期同調剤としてノコダゾールおよびコルヒチン(M期同調剤:M期で同調されることで、エンドサイトーシスが停止する)で24時間処理し、同調剤をWashout直後ではプラズマ照射による遺伝子導入が50%程度に抑制されることが明らかになり、プラズマ照射による分子導入にはエンドサイトーシスが関与していることが本実験からも明らかになった。この、オートファジー阻害剤による細胞周期同調作用は**当初計画では想定していなかった効果**であったが、これを有効に活用し、プラズマ遺伝子導入法の主要機序がエンドサイトーシスであることが従来とはことならアプローチで再確認できたことは非常に意義が大きい。

(8) プラズマ分子導入にかかわる化学的要因としての過酸化水素の役割を明らかにするために、プラズマ照射時に発生する過酸化水素の測定法を確立し、2ppm以上の過酸化水素では細胞障害を引き起こすことが明らかになり、プラズマ分子導入に係わる過酸化水素濃度は0.01ppm以下の低濃度で十分であることが示唆された。

\* (9) 細胞内プロセスとして、エンドサイトーシスがどのように起こり、分子導入にはエンドサイトーシスを起こせば十分なのかを明らかにするために、エンドサイトーシス促進剤を用い

た検討を実施した結果、プラズマ刺激なしで促進剤により単にエンドサイトーシスを引き起こすだけでは、遺伝子の導入はほとんど生じないことが明らかになった。これは**計画当初には予定していなかった「化学物質によるエンドサイトーシス促進」を用いてプラズマの電荷の重要性を検証した実験**で、プラズマの有用性と機序における細胞膜の電荷修飾、およびエンドサイトーシスの惹起が重要であることを明らかに出来た点で意義が大きい。

\* (10) ウェル上の細胞群を等価回路網モデルで表現し回路解析により電流と電界のどちらが導入率の決定要因になっているかを解析したところ、電流が電気電気な刺激の主要因であることが示唆された。これらのことと昨年度までの結果から、細胞の帯電によるプラスミドと細胞の衝突プロセスの促進と電流と活性酸素種の複合刺激によるエンドサイトーシスの惹起の 2 段階のプロセスでプラズマ遺伝子導入が生じていると考えるのが適切であるとの結論に至った。**等価回路網解析による電流と電界の重要性の検討は計画当初には予定していなかったが、第 3 年度までの進捗から電流と電界の効果を分離する必要がある、考案したアプローチである。**これにより、電氣的要因として電流が重要であることの示唆を得たことは今後のプラズマ遺伝子・分子導入法の改善と機序のさらなる解明を進めるための突破口となるものであり、学術的にも実用に向けても非常に意義の大きな結果であると言える。

以上の(1)～(10)の成果より、プラズマ遺伝子・分子導入法の機序解明が進み、細胞帯電によるプラスミドと細胞の衝突プロセスの促進、電流と活性酸素種の複合刺激によるエンドサイトーシスの惹起の 2 段階のプロセスでプラズマ遺伝子導入が生じているとの結論に至るとともに、技術が熟成され実用化へ近づけることが出来た。今後は、さらなる機序の解明、特に、エンドサイトーシスが惹起される細胞内プロセスの解明と医療応用に向けた安全性の確認を進める必要がある。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hiramatsu Tatsuya, Hirashige Hiroko, Kido Yugo, Satoh Susumu, Jinno Masafumi	4. 巻 58
2. 論文標題 Importance of collision frequency in the molecular size dependency of gene transfer efficiency in the surface discharge method	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 SEEG05 ~ SEEG05
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7567/1347-4065/ab17c6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kido Yugo, Motomura Hideki, Ikeda Yoshihisa, Satoh Susumu, Jinno Masafumi	4. 巻 16
2. 論文標題 Clarification of electrical current importance in plasma gene transfection by equivalent circuit analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0245654
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0245654	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Jinno Masafumi, Satoh Susumu, Ikeda Yoshihisa, Motomura Hideki	4. 巻 60
2. 論文標題 The new technology of molecular and gene introduction method using discharge plasma: plasma brings features of random genome integration-free and damage-free to cells, genomic-DNA and external introducing molecules	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 030502 ~ 030502
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.35848/1347-4065/abe60a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計32件（うち招待講演 4件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大西 謙二郎、若村 昭歩、庵原 聖末、佐藤 晋、神野 雅文
2. 発表標題 プラズマ遺伝子導入法を用いた細胞医療の有用性検討
3. 学会等名 第68回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 本村 英樹、木戸 祐吾、池田 善久、佐藤 晋、神野 雅文
2. 発表標題 プラズマ遺伝子導入に作用する電氣的要因の回路網解析
3. 学会等名 第68回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 若村昭歩, 大西謙二郎, 庵原聖未, 佐藤晋, 神野雅文
2. 発表標題 マイクロプラズマ遺伝子導入法を用いた細胞医療の実用化可能性の検討
3. 学会等名 第38回プラズマプロセッシング研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 神野 雅文、池田 善久、本村 英樹、木戸 祐吾、佐藤 晋
2. 発表標題 プラズマ複合刺激によるゲノムインテグレーションフリーで自発的な細胞の外部分子/遺伝子取り込みとその応用
3. 学会等名 第81回応用物理学会 秋季学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高木 祐輝、佐藤 晋、木戸 祐吾、神野 雅文
2. 発表標題 プラズマによる細胞への巨大分子導入時のエンドサイトーシスの役割
3. 学会等名 第81回応用物理学会 秋季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 神野雅文、本村英樹、木戸祐吾、池田善久、佐藤晋
2. 発表標題 プラズマによる遺伝子・分子導入現象の機序を電気の立場で考える
3. 学会等名 第37回プラズマ・核融合学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Jinno, M., Yoshitake, T., Miyamoto, N., Kido, Y., Satoh S
2. 発表標題 Informatics Optimization of the Operational Parameters for Individual Cell Kind in Micro-plasma Gene Transfection
3. 学会等名 2nd International Conference on Data Driven Plasma Science
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshitake, T., Miyamoto, N., Kido, Y., Satoh S., Jinno, M
2. 発表標題 Informatics Approach Considering Tree Dimensional Cell Structure to Optimize Plasma Irradiation Time in Plasma Gene Transfer Method
3. 学会等名 2nd International Conference on Data Driven Plasma Science
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 神野 雅文、池田 善久、本村 英樹、木戸 祐吾、佐藤 晋
2. 発表標題 プラズマ複合刺激によるゲノムインテグレーションフリーで自発的な細胞による外部分子/遺伝子取り込みと農水産分野への応用
3. 学会等名 第67回応用物理学会 春季学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 平重 寛子, 平松 達弥, 木戸 祐吾, 佐藤 晋, 神野 雅文
2. 発表標題 大量一括処理かつ多種細胞へ適用可能な新しい遺伝子導入
3. 学会等名 第42回分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平松 達弥, 平重 寛子, 木戸 祐吾, 佐藤 晋, 神野 雅文
2. 発表標題 沿面放電分子導入法における遺伝子導入効率の分子サイズおよび質量濃度依存性
3. 学会等名 第42回分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 桑原雄也, 木戸祐吾, 佐藤晋, 神野雅文
2. 発表標題 プラズマ分子導入法による導入分子の細胞内移行の3Dタイムラプス解析
3. 学会等名 第42回分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福田 亮介, 菊池 勇登, 木戸 祐吾, 佐藤 晋, 神野 雅文
2. 発表標題 ノコダゾールがプラズマ分子導入法の遺伝子導入および遺伝子発現におよぼす効果
3. 学会等名 第42回分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 神野 雅文
2. 発表標題 自発的な遺伝子・分子導入を惹起する複合刺激源としてのプラズマ
3. 学会等名 第29回日本MRS年次大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉武 卓哉, 宮本 展寛, 木戸 祐吾, 佐藤 晋, 神野 雅文
2. 発表標題 プラズマ遺伝子導入法における細胞種毎の最適条件へのインフォーマティックス的アプローチ
3. 学会等名 第66回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平松 達弥, 平重 寛子, 木戸 祐吾, 佐藤 晋, 神野 雅文
2. 発表標題 細胞-導入分子間の衝突周波数から見た沿面放電法における遺伝子導入効率の分子量依存性
3. 学会等名 第66回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平重 寛子, 平松 達弥, 木戸 祐吾, 佐藤 晋, 神野 雅文
2. 発表標題 電氣的要因の数値解析を用いた沿面放電による遺伝子導入機序の探索
3. 学会等名 第66回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 M. Jinno, T. Hiramatsu, H. Hirashige, Y. Kido, and S. Satoh
2 . 発表標題 Gene transfer efficiency of surface discharge method depending on molecular size and collision frequency between gene and cell
3 . 学会等名 24th International Symposium on Plasma Chemistry
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Jinno, M., Yoshitake, T., Miyamoto, N., Kido, Y. and Satoh, S.
2 . 発表標題 Informatics optimization of the parameters for individual cell kind in micro-plasma gene transfection
3 . 学会等名 2nd International Conference on Data Driven Plasma Science
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Yoshitake, T., Miyamoto, N., Kido, Y., Satoh, S., and Jinno, M
2 . 発表標題 Informatics Approach Considering Tree Dimensional Cell Structure to Optimize Plasma Irradiation Time in Plasma Gene Transfer Method
3 . 学会等名 2nd International Conference on Data Driven Plasma Science
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Masafumi Jinno, Yoshihisa Ikeda, Yugo Kido, and Susumu Satoh
2 . 発表標題 Innovative Gene/Molecule Transfection Using Micro-plasma
3 . 学会等名 10th anniversary of International Workshop on Microplasmas
4 . 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuto Kikuchi, Yuki Isozaki, Yoshihisa Ikeda, Yugo Kido, Susumu Satoh, Masafumi Jinno
2. 発表標題 Improve gene stability in plasma gene transfection by autophagy inhibition
3. 学会等名 7th International Conference on Plasma Medicine
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masafumi Jinno, Kouki Yamamoto, Yugo Kido, Susumu Satoh
2. 発表標題 Endocytosis dependency of gene transfer in plasma method and electroporation
3. 学会等名 7th International Conference on Plasma Medicine
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉武 卓哉, 宮本 展寛, 木戸 祐吾, 佐藤 晋, 神野 雅文
2. 発表標題 プラズマ遺伝子導入におけるプラズマ照射条件のインフォーマティックス的最適化
3. 学会等名 第79回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 池田 善久, 木戸 祐吾, 佐藤 晋, 神野 雅文
2. 発表標題 プラズマ遺伝子導入における電氣的要因と化学的のシナジー効果
3. 学会等名 第78回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 木戸 祐吾、本村 英樹、佐藤 晋、神野 雅文
2. 発表標題 プラズマ遺伝子・分子導入における電気的作用要因の寄与
3. 学会等名 第78回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉武 卓哉、宮本 展寛、木戸 祐吾、佐藤 晋、神野 雅文
2. 発表標題 プラズマ照射による上皮細胞への遺伝子導入
3. 学会等名 第65回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森 貴之、木戸 祐吾、池田 善久、佐藤 晋、神野 雅文
2. 発表標題 塩化マンガンが遺伝子発現に及ぼす効果
3. 学会等名 第65回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福田 亮介 , 菊池 勇登 , 木戸 祐吾 , 佐藤 晋 , 神野 雅文
2. 発表標題 ノコダゾールがプラズマ分子導入法の遺伝子導入および遺伝子発現におよぼす効果
3. 学会等名 第42回分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 桑原雄也, 木戸祐吾, 佐藤晋, 神野雅文
2. 発表標題 プラズマ分子導入法による導入分子の細胞内移行の3Dタイムラプス解析
3. 学会等名 第42回分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平松 達弥, 平重 寛子, 木戸 祐吾, 佐藤 晋, 神野 雅文
2. 発表標題 沿面放電分子導入法における遺伝子導入効率の分子サイズおよび質量濃度依存性
3. 学会等名 第42回分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平重 寛子, 平松 達弥, 木戸 祐吾, 佐藤 晋, 神野 雅文
2. 発表標題 大量一括処理かつ多種細胞へ適用可能な新しい遺伝子導入
3. 学会等名 第42回分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 形質転換細胞の製造方法	発明者 神野雅文、加藤英政、徳澤佳美、大西章仁、明上純子、佐	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-115200	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

## 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	佐藤 晋  (SATO SUSUMU)		
連携研究者	池田 善久  (IKEDA YOSHIHISA)  (00735318)	愛媛大学・理工学研究科・准教授   (16301)	
連携研究者	本村 英樹  (MOTOMURA HIDEKI)  (80332831)	愛媛大学・理工学研究科・准教授   (16301)	
連携研究者	加藤 英政  (KATO HIDEMASA)  (50292123)	愛媛大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授   (16301)	

## 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

## 8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関