

PRESS RELEASE

2025年10月14日

## マイクロ流体システムを使った細胞編集技術 ～安全・低コストな遺伝子導入法の提案～

### <概要>

豊橋技術科学大学機械工学系、応用化学・生命工学系、次世代半導体・センサ科学研究所と佐世保工業高等専門学校の研究チームは、マイクロ流体システムを利用した電気穿孔装置を開発しました。本装置により不死化リンパ芽球細胞<sup>\*1</sup>に山中因子<sup>\*2</sup>を導入し、従来法と遜色無い効率でiPS細胞<sup>\*3</sup>を樹立できることを実証しました。マイクロ流体システムを用いることで従来法では扱いにくい数マイクロリットル程度の少量サンプルを扱うことができ、低コストで効率良いiPS細胞の樹立が期待できます。

### <詳細>

電気穿孔法とは、細胞内に外部から物質を入れる手法の1つです。電気刺激を用いて遺伝子等の物質を細胞内に輸送します。遺伝子導入に関しては、ウイルスを使う手法と比べて安全で細胞のがん化リスクが低く、iPS細胞の樹立においても標準的に利用される手法です。

一般的な電気穿孔法による遺伝子導入は電極付きの箱型容器に細胞と遺伝子を含む溶液を入れ、高電圧パルスを印加することによって実施されます。この方法では、一度に使う溶液が多いため、高価な遺伝子試薬が多く必要でした。また、近年開発が進んでいるマイクロ流体システムを使った電気穿孔に関する先行研究では、少量サンプルの処理に着目したものや、実際にiPS細胞の樹立をした例がありませんでした。

研究チームは、少量サンプルを処理するマイクロ流体システムを使った電気穿孔装置を開発し、少ない試薬からiPS細胞を樹立できることを実証しました。流路へのサンプルの導入には溶液を分取するのに使うピペットチップ<sup>\*4</sup>をそのまま利用し、手軽な操作性を実現しています。細胞に電気穿孔を加えるにはマイクロ電極対を利用します。小さい空間に電界を集中することによって10 V程度の電圧で電気穿孔を実現できます。また、高周波の交流電界を使うことで電極の溶出が抑制されます。従来の箱型装置では100Vを超える高圧パルス電源が必要でしたが、本手法であれば市販のICなどで回路を構成することも可能です。

性能評価では3マイクロリットルの高濃度の細胞と遺伝子を含む溶液に対して電気穿孔を実施しました。数十秒程度でおよそ3万個の細胞に対して電気穿孔を実施することができました。

iPS細胞の樹立では、樹立に必要な12万個程度の細胞と山中因子を12マイクロリットルの溶液に入れ、電気穿孔と培養を実施し、最大57個（処理した細胞の0.048%）のiPS細胞コロニーを得ることができました。この効率は従来型の電気穿孔装置で得られた結果

と比べて遜色無いものでした。

#### \*1 不死化リンパ芽球細胞

リンパ芽球細胞に EB ウイルスを感染させることによって不死化されたリンパ芽球細胞株。血液サンプルから樹立でき、長期間維持可能な特性を持つ。疾患情報等と関連付けられたバイオリソースとして利用されている。

#### \*2 山中因子

体細胞から iPS 細胞を作り出すのに必要な 4 つの遺伝子 (Oct3/4、Sox2、Klf4、C-Myc)、もしくはこれらから派生した遺伝子群。これらを体細胞内に導入し、特定条件で培養することによって細胞の初期化 (リプログラミング) が生じる。本研究では山中因子を含む 3 つのプラスミドベクター (pCXLE-hSK、pCXLE-hOCT3/4-shp53-F、pCXLE-hUL) を用いている。

#### \*3 iPS 細胞

体細胞に対して山中因子と呼ばれる遺伝子群を導入することによって多能性を与えられた人工多機能幹細胞。2006 年に山中伸弥らによって発表された。再生医療や創薬研究等の多岐にわたる分野への応用が期待されている。

#### \*4 ピペットチップ

微量の液体操作に使われるマイクロピペットと呼ばれる器具に装着して使用する、使い捨ての樹脂部品。細い円錐型の部品であり、吸引した液体を内部に保持するのに使われる。

### <開発秘話>

筆頭著者である研究員の手島美帆は、「マイクロ流体システムの構成を考える段階で紆余曲折がありましたが、最終的に一番シンプルな形態にたどり着きました。マイクロ流体システムとしては挙動や操作が簡単な部類に入りますが、再現性や繰り返しの検証が要求される細胞実験においては最適な形態だと考えています。iPS 細胞の樹立については、遺伝子導入が難しく細胞死が生じやすいといわれる不死化リンパ芽球細胞をうまく処理し、必要な数の細胞を電気穿孔処理後の培養工程に持っていく段階で苦労しました。」と述べています。

### <今後の展望>

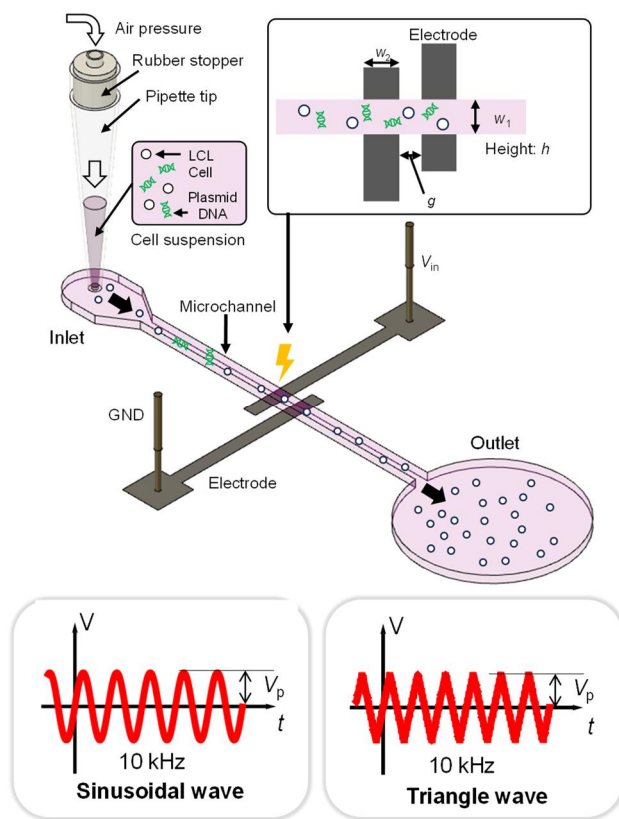
本手法により、iPS 細胞の樹立コスト低減や少量・多種サンプルを使った網羅的な研究における作業量削減などが期待でき、医療や学術研究への適用が期待されます。再生医療や創薬のコスト低減に貢献できる可能性があります。また、他のマイクロ流体システムとの融合により、革新的な電気穿孔システムの開発を進めています。

## <外部資金情報>

本研究は JSPS 科学研究費 (特別研究員奨励費 22KJ1632), 科学技術振興機構 研究成果最適展開支援プログラム (A-STEP, シーズ育成タイプ, AS2915129U)、内藤科学技術振興財団、日比科学技術振興財団の助成を受けたものです。

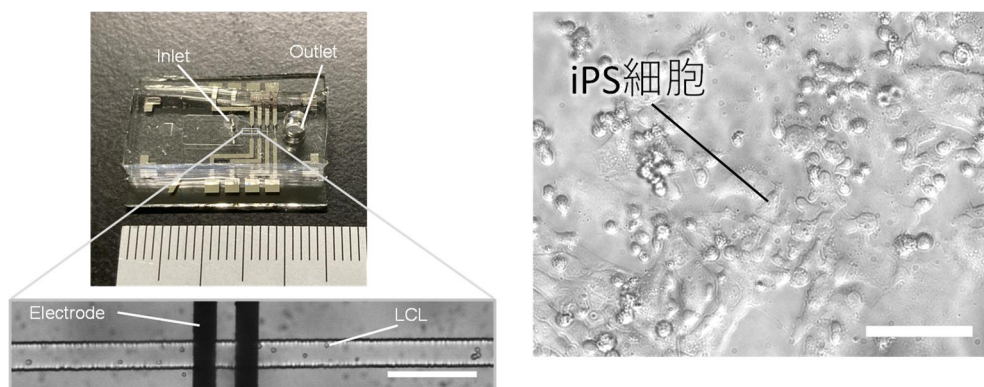
## <論文情報>

Miho Ishii-Teshima, Koki Maeda, Kazuki Hanauchi, Emika Asechi, Defan Setyawan, Takeshi Niki, Kenji Nakashima, Hirofumi Kurita, Rika Numano, Takayuki Shibata (2025) Gene electrotransfer with flow-through microchannel and lower alternating voltage generated induced pluripotent cells from human lymphoblastoid cell lines, PLOS ONE 2025 Vol. 20 Issue 9 Pages e0333491, 10.1371/journal.pone.0333491



タイトル：マイクロ流体システムを利用した電気穿孔装置

キャプション：システムの概要。(上) マイクロ流路と電極、試料の配置 (下) 電極に印加された電圧波形。



タイトル：実験に使われた試料

キャプション：（左）実験に使われたマイクロ流路デバイスと、流路内を流れる不死化リンパ芽球細胞（LCL）。スケールバーは200 マイクロメートル。（右）樹立された iPS 細胞コロニー。スケールバーは100 マイクロメートル。

#### 【問い合わせ先】

（研究に関すること）

豊橋技術科学大学

機械工学系マイクロ・ナノ機械システム研究室

研究員 手島美帆

Email : teshima.miho.lh@tut.jp

（報道に関すること）

豊橋技術科学大学

広報担当：総務課企画・広報係

TEL : 0532-44-6506

Email : kouho@office.tut.ac.jp

佐世保工業高等専門学校

総務課 総務企画係

TEL : 0956-34-8415

Email : kikaku@sasebo.ac.jp

