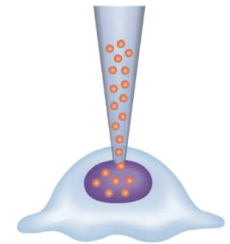


初代培養細胞、幹細胞へのデリバリー

Single Cellome™ Unit SU10

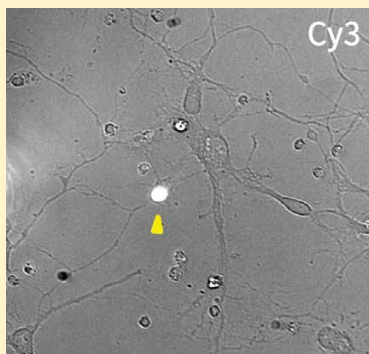
はじめに

SU10は、先端外径が最小数十nmの“ナノ”ピペット（ガラスキャピラリー）により、目的の物質を直接細胞内（核、細胞質）にデリバリーすることができる新規技術です。従来の方法では導入が難しい細胞（導入効率が低い、ほとんど増殖しないため導入細胞をセレクションできない）への適用が期待されます。本アプリケーションノートでは、SU10を用いて初代培養細胞と幹細胞に蛍光試薬やプラスミドを注入した事例をご紹介します。



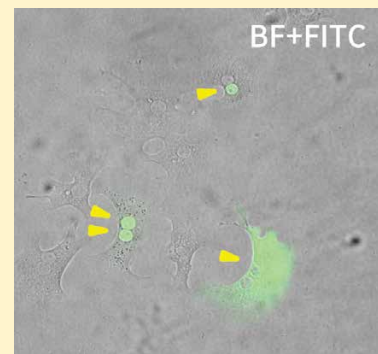
SU10による初代培養細胞、幹細胞へのデリバリー

細胞：マウス神経細胞（海馬由来）
物質：Cy3-oligonucleotide (10 μM)

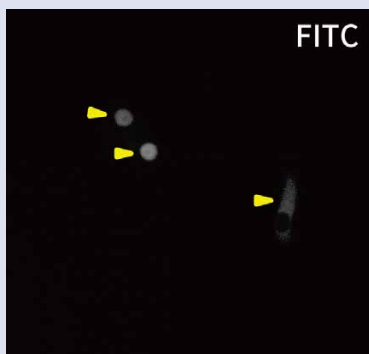


データご提供：東京大学 岡田康志 研究室 岩崎 奏子様

細胞：マウス肝実質細胞
物質：FITC-dextran (MW 70K, 10 mg/mL)



細胞：ヒト iPS 細胞 (201B7 株)
物質：FITC-dextran (MW 70K, 10 mg/mL)



データご提供：理化学研究所 生命機能科学研究センター
松崎研究室様

結果と考察

[左上]

マウス神経細胞の核へのデリバリー例です。

[右上]

マウス肝実質細胞の核、細胞質へのデリバリー例です。細胞核へのデリバリーに関しては細胞内の2つの核の内、片方への注入と両方への注入に成功しています。

[左下]

ヒトiPS細胞（2次元分散培養）の核、細胞質へのデリバリー例です。

初代培養神経細胞へのプラスミドベクターの核内デリバリー

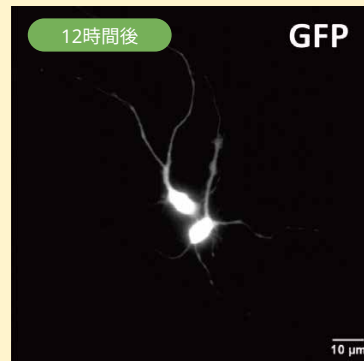
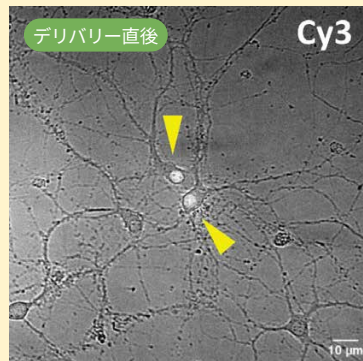
続いて、SU10を用いることで、初代培養神経細胞へのプラスミドベクターの導入効率が大幅に改善された事例をご紹介します。

SU10によるデリバリー成功率を評価するために、Cy3標識oligonucleotideをプラスミドベクターと同時に注入し、デリバリー直後にCy3蛍光シグナルを観察しました（左図）。SU10により、94.4%の成功率でデリバリーすることができたという結果が得られました（下表）。

GFP発現プラスミドベクター（pEGFP-N1）由来のGFP蛍光は、SU10デリバリーから12時間後に観察しました（右図）。その結果、従来のリン酸カルシウム法では0.1-1%であった遺伝子発現効率が、SU10により24.8%（デリバリー総細胞中の23.4%）に増加しました（下表）。

ご使用者様の声 SU10により、神経細胞を用いた実験とイメージングの幅が広がりました。今後はDNAに加えて、mRNAやタンパク質の導入を検討しています。

細胞：マウス神経細胞（海馬由来）
培養期間：12日間
物質：Cy3-oligonucleotide (10 μ M) + pEGFP-N1 (10 ng/ μ L)



デリバリー総細胞数 (使用ナノピペット:4本)	デリバリー成功率 (Cy3 ⁺ /total cells)	GFP発現率 (GFP ⁺ /Cy3 ⁺ cells)	従来法 (リン酸カルシウム法)
162	94.4%	24.8%	0.1-1%

データご提供：東京大学 岡田 康志 研究室 岩崎 奏子様

まとめ

今回の検証結果から、以下が分かりました。

- ◆ SU10は様々な初代培養細胞と幹細胞の細胞質内、核内に目的物質をデリバリー可能である
- ◆ 従来の手法では物質の導入が難しかった細胞へも高い成功率でデリバリーできる
- ◆ 複数の試薬を同時に、かつ安定した成功率で注入できる

今回ご紹介した蛍光試薬や核酸以外にも、ゲノム編集ツール（Cas9 RNP）、タンパク質（GFP、抗体などのデリバリー実績がありますので、従来の方法では導入が難しい細胞と物質でもSU10を使用することで導入できることが期待されます。

横河電機株式会社

〒180-8750 東京都武蔵野市中町 2-9-32

E-mail : SingleCell@cs.jp.yokogawa.com

URL : <https://www.yokogawa.co.jp/solutions/products-and-services/life-science/single-cellome/>



記載内容は、お断りなく変更することがありますのでご了承ください。
All Rights Reserved. Copyright © 2024, Yokogawa Electric Corporation.

[Ed:02/d]