

| | |
|------------|---|
| 実施日 | 2012/11/8 |
| 実施場所 | |
| 先生 | |
| 装置名、導入遺伝子 | NEPA21遺伝子導入装置、ネッパジーン製pCMV-EGFPベクター、先生のsiRNA |
| 電極 | ハミルトンシリンジでDNAまたはsiRNAを注射し、先端の注射針を残し電極とする。間隔5~8mm |
| siRNAの濃度と量 | PBSでsiRNAを溶解、濃度 $0.2 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ と $0.5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ |
| DNAの濃度と量 | PBSでDNAを溶解、濃度 $1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ |

対象名:マウス脊髄 3回目

| サンプル | Poring Pulse(Pp) | | | | | | Transfer Pulse(Tp) | | | | | | 抵抗(Ω) | 実行電流 Pp(A) | 熱量(QH) | 実行電流 Tp(A) | 熱量(QH) | 生存率(%) | 導入効率(%) |
|------|------------------|----------|-----------|----|--------|----|--------------------|----------|-----------|-----|--------|-----|-------|------------|--------|------------|--------|--------|---------|
| | 電圧(V) | パルス幅(ms) | パルス間隔(ms) | 回数 | 減衰率(%) | 極性 | 電圧(V) | パルス幅(ms) | パルス間隔(ms) | 回数 | パルス減衰率 | 極性 | | | | | | | |
| 1 | 20 | 5 | 50 | 2 | 10 | + | 20 | 50 | 50 | ± 5 | 40% | +/- | 646 | 0.023 | 0.003 | 0.016 | 0.055 | | |
| 2 | 50 | 5 | 50 | 2 | 10 | + | 20 | 50 | 50 | ± 5 | 40% | +/- | 609 | 0.082 | 0.032 | 0.018 | 0.055 | | |
| 3 | 70 | 5 | 50 | 2 | 10 | + | 20 | 50 | 50 | ± 5 | 40% | +/- | 527 | 0.176 | 0.114 | 0.046 | 0.136 | | |
| 4 | 14 | 5 | 50 | 2 | 10 | + | 20 | 50 | 50 | ± 5 | 40% | +/- | 352 | 0.034 | 0.003 | 0.047 | 0.138 | | |
| 5 | 20 | 5 | 50 | 2 | 10 | + | 20 | 50 | 50 | ± 5 | 40% | +/- | 712 | 0.030 | 0.007 | 0.018 | 0.054 | | |
| 6 | 28 | 5 | 50 | 2 | 10 | + | 20 | 50 | 50 | ± 5 | 40% | +/- | 341 | 0.068 | 0.016 | 0.048 | 0.141 | | |
| 7 | 50 | 5 | 50 | 2 | 10 | + | 20 | 50 | 50 | ± 5 | 40% | +/- | 662 | 0.066 | 0.029 | 0.021 | 0.065 | | |
| 8 | 50 | 5 | 50 | 2 | 10 | + | 20 | 50 | 50 | ± 5 | 40% | +/- | 421 | 0.117 | 0.054 | 0.042 | 0.134 | | |
| 9 | 100 | 5 | 50 | 2 | 10 | + | 20 | 50 | 50 | ± 5 | 40% | +/- | 829 | 0.112 | 0.101 | 0.015 | 0.046 | | |
| 10 | 20 | 5 | 50 | 2 | 10 | + | 20 | 50 | 50 | ± 5 | 40% | +/- | 504 | 0.027 | 0.003 | 0.030 | 0.089 | | |
| 11 | 26 | 5 | 50 | 2 | 10 | + | 20 | 50 | 50 | ± 5 | 40% | +/- | 623 | 0.031 | 0.006 | 0.019 | 0.067 | | |
| 12 | 48 | 5 | 50 | 2 | 10 | + | 20 | 50 | 50 | ± 5 | 40% | +/- | 571 | 0.071 | 0.031 | 0.024 | 0.074 | | |
| 13 | 52 | 5 | 50 | 2 | 10 | + | 20 | 50 | 50 | ± 5 | 40% | +/- | 657 | 0.069 | 0.033 | 0.021 | 0.620 | | |
| 14 | 75 | 5 | 50 | 2 | 10 | + | 20 | 50 | 50 | ± 5 | 40% | +/- | 626 | 0.115 | 0.080 | 0.024 | 0.071 | | |
| 15 | 66 | 5 | 50 | 2 | 10 | + | 20 | 50 | 50 | ± 5 | 40% | +/- | 539 | 0.116 | 0.074 | 0.034 | 0.104 | | |
| 16 | 66 | 5 | 50 | 2 | 10 | + | 20 | 50 | 50 | ± 5 | 40% | +/- | 777 | 0.088 | 0.049 | 0.020 | 0.057 | | |

No.1~3:PBSのみ、No.4~9:siRNA($0.2 \mu\text{g}/\mu\text{l}$)、No.10~15:siRNA($0.5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$)、No.16:pCMV-EGFPベクター

No.1,4,5,10,11:実行電流値30mA前後、No.2,6,7,12,13,16:実行電流値70mA前後、No.3,8,9,14,15:実行電流値110mA前後

Spinal cord : Protein Amount (解析:Western blotting)

| マウス No. | | | b-actin | /b-actin |
|---------|---------------|--|-----------|-----------|
| | control naïve | | 140512010 | 116249474 |
| 1 | PBS 低 | | 84650673 | 47932593 |
| 2 | PBS 中 | | 133581338 | 66430622 |
| 3 | PBS 高 | | 155533182 | 66818216 |
| 4 | 0.2 低 | | 151685809 | 59151755 |
| 5 | 0.2 低 | | 105754157 | 38282074 |
| 6 | 0.2 中 | | 119662384 | 50989976 |
| 7 | 0.2 中 | | 71531583 | 40545835 |
| 8 | 0.2 高 | | 62093913 | 99873848 |
| 9 | 0.2 高 | | 71835749 | 83442946 |
| 10 | 0.5 低 | | 49665273 | 109269759 |
| 11 | 0.5 低 | | 70209226 | 90067882 |
| 12 | 0.5 中 | | 64889826 | 104291826 |
| 13 | 0.5 中 | | 95631931 | 130025075 |
| 14 | 0.5 高 | | 76285114 | 59615319 |
| 15 | 0.5 高 | | 147209649 | 44544105 |

cont 1 2 3 4 5 6 7

低:電流値 30mA前後

中:電流値 70 前後

高:電流値 110 前後

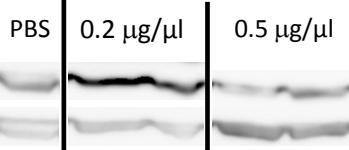


8 9 10 11 12 13 14 15



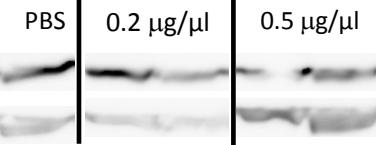
電流値 30 前後(低)

| マウス No. | | | b-actin | siRNA target /b-actin | | Transfection Efficiency |
|---------|-------|-----------|-----------|-----------------------|----------|-------------------------|
| 1 | PBS 低 | 84650673 | 47932593 | 1.766035754 | 100 | |
| 4 | 0.2 低 | 151685809 | 59151755 | 2.564350103 | 145.2037 | -45.2 |
| 5 | 0.2 低 | 105754157 | 38282074 | 2.762498108 | 156.4237 | -56.4 |
| 10 | 0.5 低 | 49665273 | 109269759 | 0.454519837 | 25.73673 | 74.3 |
| 11 | 0.5 低 | 70209226 | 90067882 | 0.779514567 | 44.13923 | 55.9 |



電流値 70 前後(中)

| マウス No. | | | b-actin | siRNA target /b-actin | Transfection Efficiency |
|---------|-------|-----------|-----------|-----------------------|-------------------------|
| 2 | PBS 中 | 133581338 | 66430622 | 2.01083979 | 100 |
| 6 | 0.2 中 | 119662384 | 50989976 | 2.346782513 | 116.7066 |
| 7 | 0.2 中 | 71531583 | 40545835 | 1.764215313 | 87.73525 |
| 12 | 0.5 中 | 64889826 | 104291826 | 0.622194744 | 30.94203 |
| 13 | 0.5 中 | 95631931 | 130025075 | 0.735488374 | 36.57618 |



電流値 110mA前後(高)

| マウス No. | | | b-actin | siRNA target/b-actin | Transfection Efficiency |
|---------|-------|-----------|----------|----------------------|-------------------------|
| 3 | PBS 高 | 155533182 | 66818216 | 2.327706295 | 100 |
| 8 | 0.2 高 | 62093913 | 99873848 | 0.621723447 | 26.7097 |
| 9 | 0.2 高 | 71835749 | 83442946 | 0.860896606 | 36.98476 |
| 14 | 0.5 高 | 76285114 | 59615319 | 1.279622676 | 54.97355 |
| 15 | 0.5 高 | 147209649 | 44544105 | 3.304806528 | 141.977 |

