

# ナノ電気穿孔法によるRNAの抽出に関する数値解析 Numerical analysis of RNA extraction by nano electroporation

1P-056

阿瀬知 笑花<sup>1)</sup>, 中島 賢治<sup>1)</sup>, 松山 史憲<sup>1)</sup>, マハムド アブデルモエズ<sup>2)</sup>, 金子 泰洸<sup>3)</sup>, 峯岸 美紗<sup>3)</sup>, 新宅 博文<sup>3),4)</sup>  
Emika Asechi<sup>1)</sup>, Kenji Nakashima<sup>1)</sup>, Fuminori Matsuyama<sup>1)</sup>, Mahmoud N. Abdelmoez<sup>2)</sup>, Taikopaul Kaneko<sup>3)</sup>, Misa Minegishi<sup>3)</sup>, Hirofumi Shintaku<sup>3),4)</sup>

1) 佐世保工業高等専門学校 National Institute of Technology, Sasebo College 2) アシュート大学 Assiut University (Egypt)  
3) 理化学研究所 Institute of Physical and Chemical Research 4) 京都大学 Kyoto University

## 1. Introduction

ナノ電気穿孔は、形質転換や細胞内物質の抽出において重要な役割を果たす細胞内物質輸送の技術である(Mukherjee, 2018).

この中で、物質輸送に影響を与える駆動因子として、電気泳動と物質拡散のどちらが支配的であるか、また、細胞内物質輸送の特徴時間は何によって支配されるかなどの微視的特性に関する調査は、数値解析によらなければ十分に行うことができない。合理的な印加電圧条件の設計を可能とするため、現実に即した物理法則や条件に基づく数値解析の実施が求められている。

本研究の目的は、実験における合理的な条件探索を可能にするために、細胞電気穿孔の数値解析を実現することである。具体的には、まず、一般的な電気穿孔モデルとして、平行平板電極による計算の妥当性を評価し、つぎにナノ電気穿孔の物理的現象に関する理解を深めるための数値解析を行う。

## 2. Method

電気穿孔の数値解析法は、電場作用によって細胞膜上に生成される細孔数密度を計算するため、式(1)の電荷保存式および式(2)のスモルコフスキー方程式を連立することでモデル化する。

電荷保存式

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot \left( \sigma + \varepsilon_0 \varepsilon_r \frac{\partial}{\partial t} \right) \nabla \Phi = 0 \quad (1)$$

スモルコフスキー方程式

$$\frac{dN(t)}{dt} = \alpha e \left( \frac{V_m}{V_{ep}} \right)^2 \left\{ 1 - \frac{N(t)}{N_0} e^{-q(V_m/V_{ep})^2} \right\} \quad (2)$$

ただし、 $\rho$  は電荷密度、 $t$  は時間、 $\sigma$  は導電率、 $\varepsilon_0$  は真空誘電率、 $\varepsilon_r$  は比誘電率、 $\Phi$  は電位、 $\alpha$  は細孔生成速度、 $V_m$  は膜電位、 $V_{ep}$  は穿孔が起こる電圧の閾値、 $N$  は細孔数密度、 $N_0$  は平衡細孔数密度、 $q$  は細孔生成率である。計算の流れは、式(1)で懸濁液電解質と細胞質の電場を計算、式(2)へ膜電位を引き継いで細孔数密度を求め、それぞれの非定常項により時間発展を行う。

細胞膜の境界条件は式(3)を使用した。式(3)の  $J$  は細胞膜破砕によって生じる電流密度であり、式(4)で表される。式(4)は、膜自体の導電と誘電による電流に、式(5)で表現される細孔部分を通過する電流  $J_{ep}(t)$  を加えて構成される(Pucihar et al., 2009).

膜の境界条件式

$$\mathbf{n} \cdot \mathbf{J} = \frac{1}{d} \left( \sigma + \varepsilon_0 \varepsilon_r \frac{\partial}{\partial t} \right) V_m \quad (3)$$

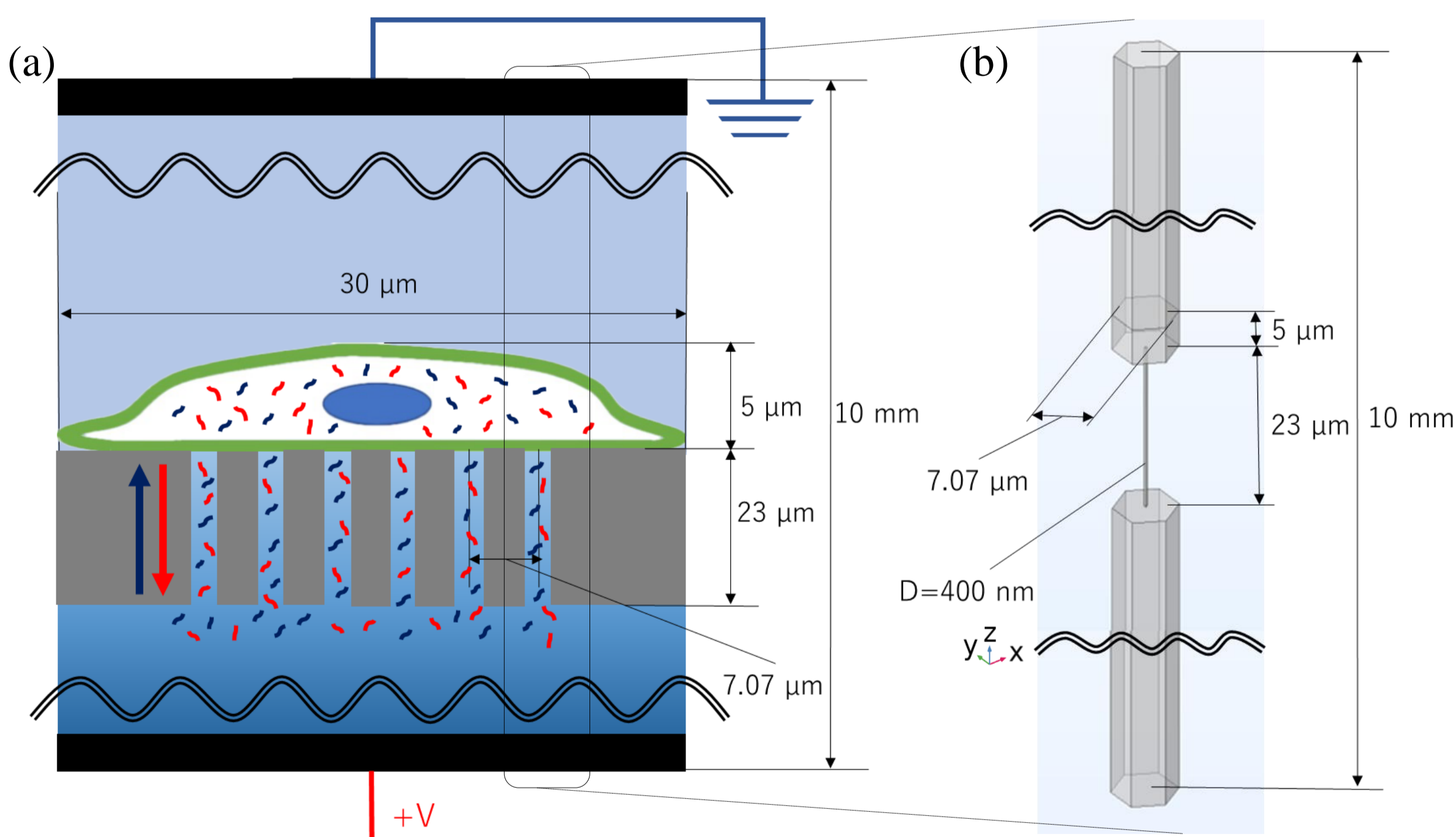
細胞膜破砕によって生じる電流密度

$$J(t) = \frac{\sigma_m(\Phi_i - \Phi_o)}{d} + \frac{\varepsilon_0 \varepsilon_m}{d} \frac{\partial(\Phi_i - \Phi_o)}{\partial t} + J_{ep}(t) \quad (4)$$

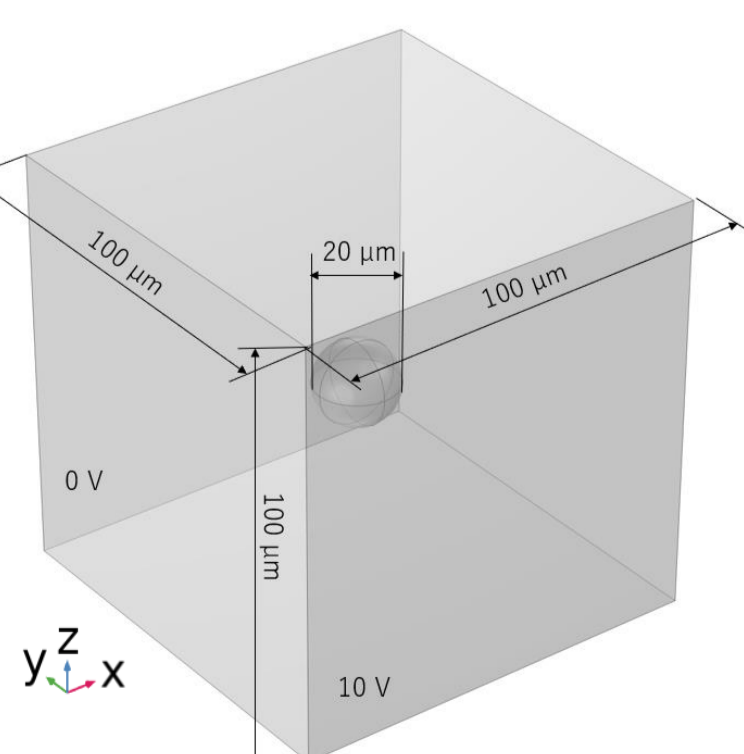
細孔部分を通過する電流

$$J_{ep}(t) = i_{ep}(t)N(t) = (\Phi_i - \Phi_o)\sigma_p\pi r_p^2 \frac{A}{d} N(t) \quad (5)$$

ただし、 $\mathbf{n}$  は膜の外向き単位法線ベクトル、 $d$  は膜厚、 $\sigma_m$  は膜の導電率、 $\varepsilon_m$  は膜の誘電率、 $\sigma_p$  は細孔の導電率、 $r_p$  は細孔の半径、 $A$  は細孔の形状を表す係数である。



**Figure 1** Overview of the experimental and computational framework for nano electroporation. (a) Schematic of the molecular transport model. The transport across the permeabilized membrane is primarily diffusive and electrophoretic. (b) Computational geometry modeled for one pore.

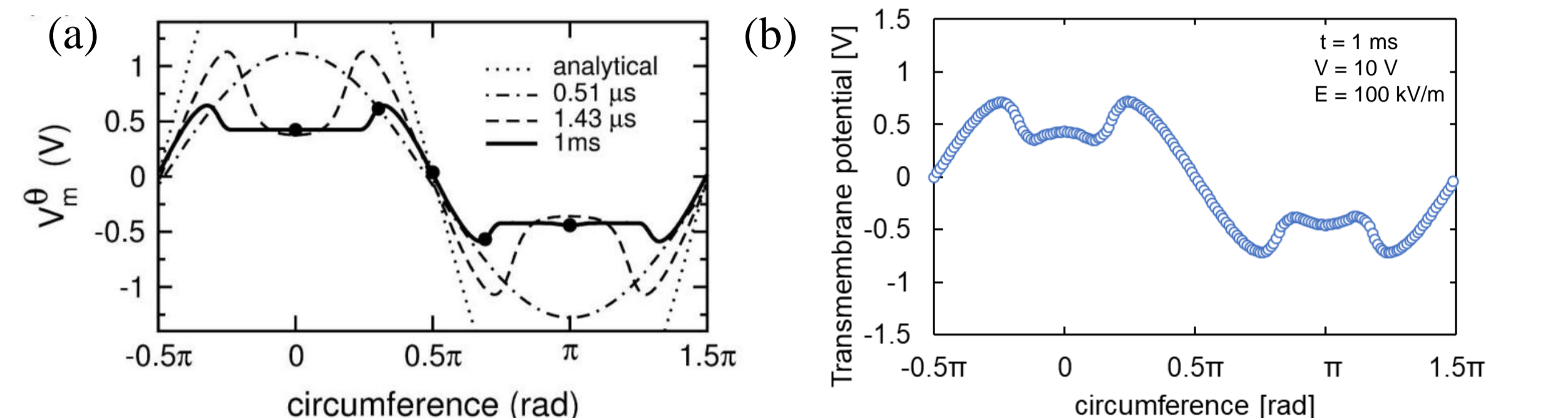


**Figure 2** Cuvette model with parallel plate electrodes using hypothetical conditions. Calculations are performed using this model to confirm that the distribution of membrane potential is consistent with that obtained by Krassowska et al. (2007) at 1 ms after perforation. The right in the foreground is the anode (10 V) and the left in the background is the cathode (0 V).

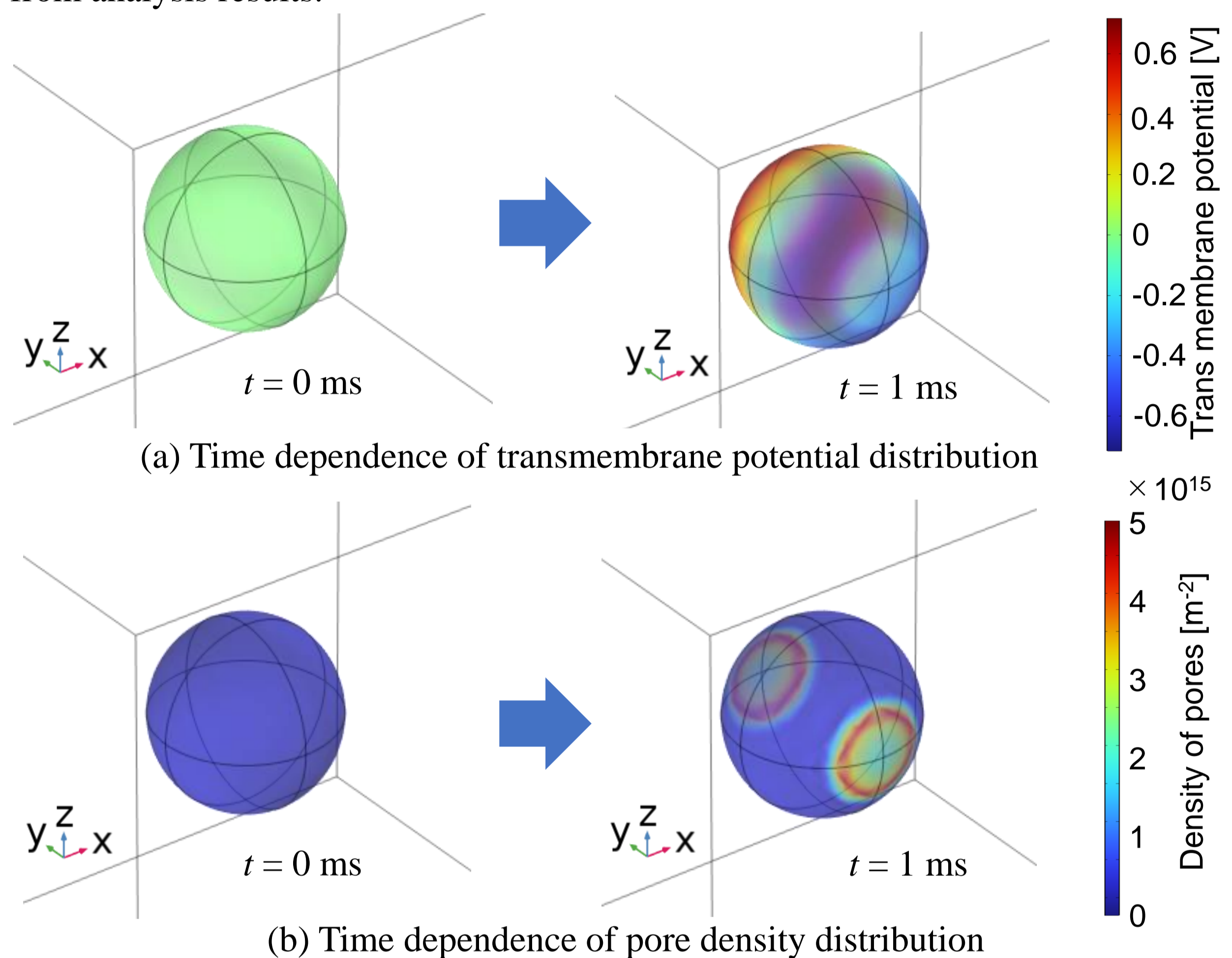
## 3. Results and Discussion

### 3.1 一般的な電気穿孔モデルによる検証

一般にキュベットなどを用いて行われる電気穿孔の実験においては、平行平板による電極が用いられる。図2のジオメトリで、印加電圧10 V、印加時間1 msの条件で計算した。図3は細胞表面の膜電位分布であり、(a)はKrassowskaら(2007)の文献値、(b)は本計算の結果である。これらを比較すると、定性的に一致していると思われる。しかし、本計算は仮の条件を用いており、Krassowskaらの条件下でのモデルでは解析の達成には至っていない。よって、前述した支配方程式と境界条件式によって細胞膜穿孔現象を定量的に再現ができていないかについては詳細な検討が必要である。



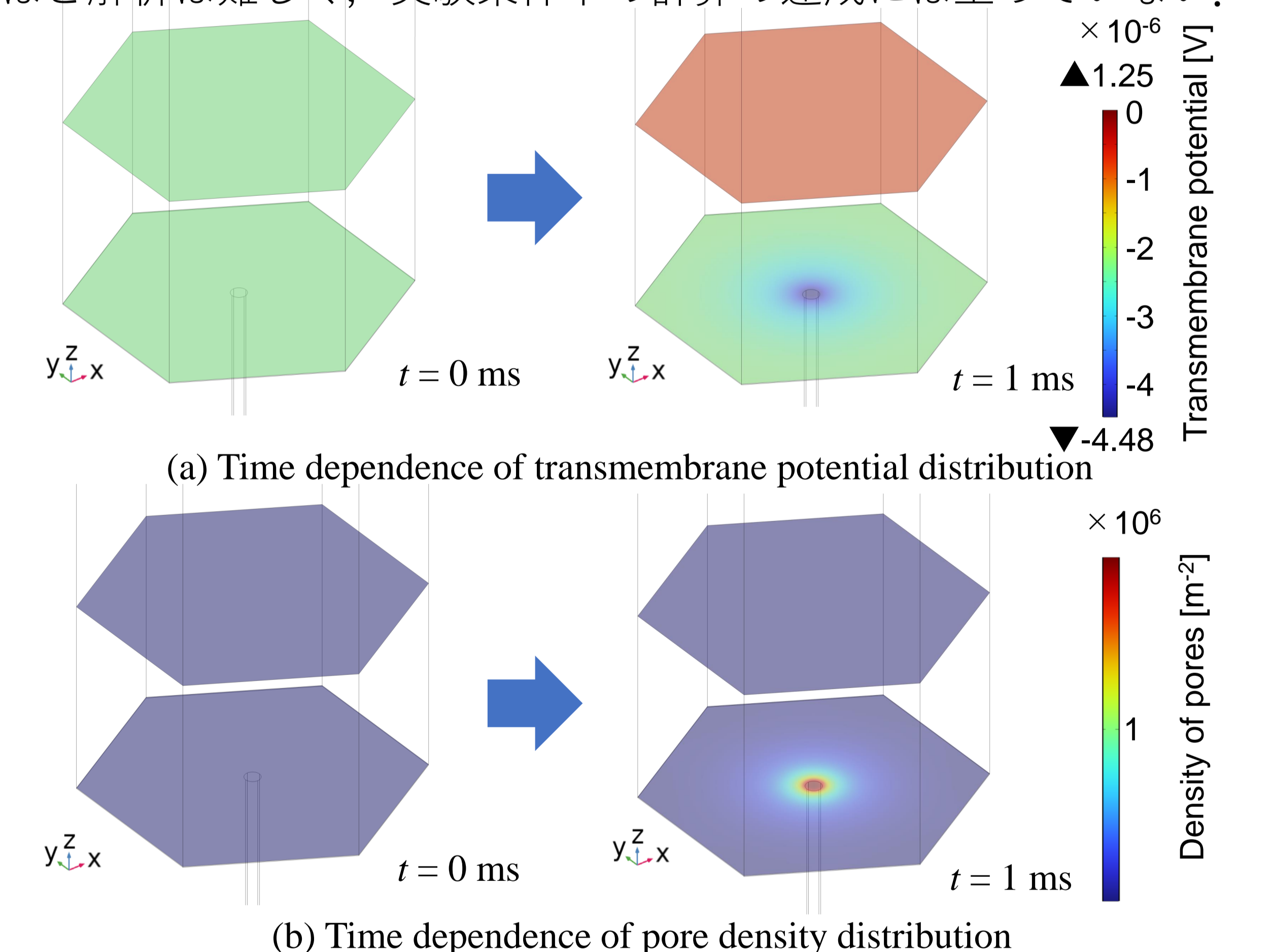
**Figure 3** Transmembrane potential distribution when using parallel plate electrodes. (a) shows the transmembrane potential distribution obtained by Krassowska et al. (2007). (b) shows the transmembrane potential distribution from analysis results.



**Figure 4** Analysis results of general electroporation model. Applied voltage is 10 V and the voltage application time is 1 ms. The number of elements is 400,421 and the average computation time is about 14 hours.

### 3.2 ナノ電気穿孔法のモデルによる検証

図5は図1 (b)のジオメトリで、印加電圧0.1 mV、印加時間1 msの条件で計算した結果である。印加電圧または印加時間が大きいほど解析は難しく、実験条件下の計算の達成には至っていない。



**Figure 5** Analysis results of nano electroporation model. Applied voltage is 0.1 mV and the voltage application time is 1 ms. The number of elements is 133,552 and the average computation time is about 5 hours.

## 4. Conclusion

印加電圧10 V、印加時間1 msの条件で一般的な電気穿孔モデルの数値解析を実施し、これにより膜電位分布と孔密度分布を3次的に得ることができた。ただし、ナノ電気穿孔の数値解析では、計算条件の厳しさから目標の達成には至らなかった。今後、本来の実験条件下（印加時間5 msと印加電圧75 V）の計算を実現するために、時間ステップや空間の解像度について、現象の時定数に応じた調整が必要である。

## Reference

Krassowska, W. and Filev, P. D., Modeling Electroporation in a Single Cell, Biophysical Journal, 92 (2007), pp. 404-417.  
Mukherjee, P. S. Shiva P. Nathamgari, John A. Kessler, and Horacio D. Espinos, Combined Numerical and Experimental Investigation of Localized Electroporation-Based Cell Transfection and Samplin, ACS Nano 2018, 12118(12), (2018)  
Pucihar, G., Miklavcic, D., & Kotnik, T. A Time-Dependent Numerical Model of Transmembrane Voltage Inducement and Electroporation of Irregularly Shaped Cells. IEEE Transactions on Biomedical Engineering, 56(5), (2009), 1491-1501.

一般社団法人日本生理学会  
COI開示

発表者名: ©阿瀬知 笑花, 中島 賢治, 松山 史憲,  
マハムド アブデルモエズ, 金子 泰洸, 峯岸 美紗, 新宅 博文

演題発表内容に関連し、発表者らに  
開示すべき事項はありません。