

大気圧プラズマ照射による水溶性高分子の細胞膜透過性促進

Cell Membrane Permeability of Water-soluble Macromolecules

Enhanced by Atmospheric Pressure Plasma Irradiation

東北大院工¹, 東北大院医工² ○佐々木 渉太¹, 保苅 雄太郎¹, 神崎 展², 金子 俊郎¹,

Dept. of Electronic Eng., Tohoku Univ.¹, Dept. of Medical Eng., Tohoku Univ.²

○Shota Sasaki¹, Yutaro Hokari¹, Makoto Kanzaki², Toshiro Kaneko¹

E-mail: sasaki12@ecei.tohoku.ac.jp

一般的に水溶性高分子は細胞膜透過性が低いことが知られている。現在、水溶性が高いことが望ましい薬剤においても、細胞内取り込みのため、ある程度の脂溶性が付加されるが、そのことが組織集中・蓄積等の様々な問題をもたらしている。また、水溶性である外来遺伝子を強制的に細胞内に導入する遺伝子導入技術は、遺伝子機能解析や iPS 細胞作製等に欠かせない必須の技術であるが、従来法では効率・細胞毒性の面で改善が必要である。これに対して、筆者らは、生細胞に直接大気圧プラズマを照射することにより、高い生存率を保ちながら、水溶性高分子が細胞内に導入されることを報告している[1]。しかしながら、その機構が未解明であることから、実用化には至っていない。今回は、導入機構解明に向けて、プラズマが有する物理的作用と化学的作用が細胞膜透過性促進に大きく寄与すると考え、それらを制御したプラズマを生細胞へと照射した後、導入効率及び細胞生存率を評価したので、その結果を報告する。

実験は、ヘリウムを原料ガスとした大気圧プラズマジェット (周波数 $f \simeq 10$ kHz, 電圧 $V_{pp} \simeq 10$ kV) を用いて行った。水溶性蛍光物質 YOYO-1 をあらかじめ混合した生理食塩水中の培養細胞に対して一定の時間 (t_i), プラズマ照射を行い、導入効率及び細胞毒性を評価した。

図 1 に示すように、大気圧プラズマを照射した部分でのみ 80%を超える細胞に対して YOYO-1 導入(緑色蛍光)が観測されており、選択的な水溶性高分子導入に成功している。このことは、プラズマ照射に伴う細胞への電気的ストレスと活性種による酸化ストレスが同時に加わり、それらの相乗効果で膜輸送体を介した細胞内導入が促進されたためと考えている。また、同条件のプラズマ照射後の細胞毒性を alamar Blue を用いて測定した結果、図 2 に示すように顕著な毒性は認められなかった。

講演では、詳細な導入効率・生存率の各照射条件依存性に加え、細胞膜透過性促進に寄与するプラズマの因子同定及びプラズマ照射後の細胞応答について評価した結果も合わせて報告する。

[1] S. Sasaki, et al., Appl. Phys. Express 7 (2014) 026202.

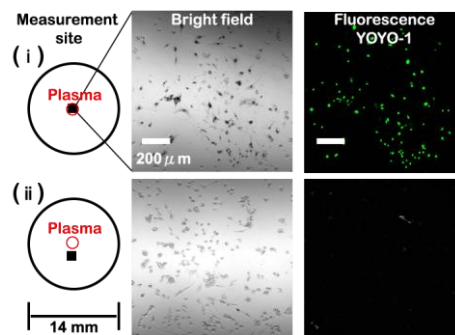


図 1: YOYO-1 の選択的細胞内導入。
($t_i = 1$ s)

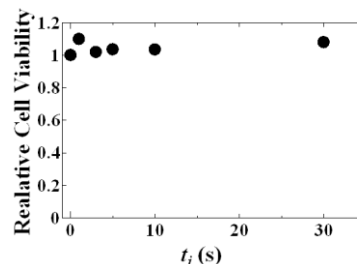


図 2: 細胞毒性のプラズマ照射時間依存性。