# 異種気液界面プラズマによる細胞膜透過性促進の比較

## Comparison of Cell Membrane Permeabilization between Different Types of Gas-Liquid Interfacial Plasmas

°金子 俊郎[1]，佐々木 渉太[1]，保苅 雄太郎[1]，鄭 悦星[1]，高島 圭介[1]，神崎 展[2]
(1. 東北大院工，2. 東北大院医工)
°Toshiro Kaneko[1], Shota Sasaki[1], Yutaro Hokari[1], Yuexing Zheng[1], Keisuke Takashima[1], Makoto Kanzaki[2]
(1.Dept. of Electronic Eng., Tohoku Univ., 2.Dept. of Biomedical Eng., Tohoku Univ.)
E-mail: kaneko@ecei.tohoku.ac.jp

筆者らは，大気圧非平衡プラズマを溶液と接触させた「気液界面プラズマ」による低侵襲・高効率の遺伝子・薬剤導入手法の確立を目指して研究を行っている．これまでに，大気圧プラズマジェットを用いて，プラズマ照射溶液中の短寿命活性種が細胞膜に存在するイオンチャネル（TRP チャネル）を活性化し，生理的なカルシウムイオン（$Ca^{2+}$）の細胞内流入を誘発すること[1]，及び $Ca^{2+}$ 流入がトリガとなり物質量1300程度の薬剤模擬蛍光物質の細胞膜透過性を促進すること[2-6]を示してきた．一方で，体内でのプラズマ生成による遺伝子導入を目的として，溶液中でパルス放電プラズマを生成し[7]，その際に発生する活性種の測定及びそれらの細胞膜透過性に対する効果を評価してきた．そこで今回，これらの二つの異なる気液界面プラズマによる細胞膜透過性を比較し，その差異を溶液中に生成される活性種の観点から考察したので報告する．

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 $\boldsymbol{f} \simeq 10$ kHz, 電圧 $\boldsymbol{V}_{\mathbf{p\text{-}p}} \simeq 5$ - 12kV) （気相中プラズマ）と同軸円筒形状の電極（中心高電圧電極：外径 0.15 mm，外筒接地電極：内径 6 mm）にパルス電圧 (印加電圧 ：$\boldsymbol{V}_{\mathbf{in}} = 1.5$ kV，パルス幅 ：$\boldsymbol{T}_{\mathbf{p}} = 100$ μs) を印加して液相中で生成したパルス放電プラズマ（液相中プラズマ）を用いて行った．溶液中の活性種の計測には化学プローブ法，吸収分光法，電子スピン共鳴 (ESR) 法を用いた．また，細胞内導入に伴い緑色蛍光を発する蛍光物質 YOYO-1 を用いて細胞膜透過性を評価した．

プラズマ照射時間（気相中プラズマ）および放電回数（液相中プラズマ）に対する YOYO-1 導入量の依存性を調べたところ, 気相中・液相中プラズマともに導入量が単調増加せずに極大値を示し，液相中プラズマでの導入量が気相中プラズマと比べて 5 倍程度大きいことが分かった．そのときの活性種を調べたところ，液相中プラズマにおいては極短寿命活性種である OH ラジカルが放電プラズマ停止後も数 10 秒程度存在しているのに対して，気相中プラズマを照射した溶液中では，プラズマ照射停止 1 秒後にはほぼ消失していることが明らかとなり，これらの差異が細胞膜透過性に影響を与えたと考えている．

講演では，OH ラジカル以外の活性種についても測定した結果を加えて，異種気液界面プラズマにおける生成活性種と細胞膜透過性に対する効果について考察した結果も合わせて報告する．

[1] S. Sasaki, M. Kanzaki, and T. Kaneko: *Sci. Rep.* **6** (2016) 25728.
[2] S. Sasaki, M. Kanzaki, and T. Kaneko: *Appl. Phys. Express* **7** (2014) 026202.
[3] T. Kaneko, S. Sasaki, Y. Hokari, S. Horiuchi, R. Honda, and M. Kanzaki: Biointerphases **10** (2015) 029251.
[4] S. Sasaki, M. Kanzaki, Y. Hokari, K. Tominami, T. Mokudai, et al.: *Jpn. J. Appl. Phys.* **55** (2016) 07LG04.
[5] S. Sasaki, R. Honda, Y. Hokari, K. Takashima, et al.: *J. Phys. D: Appl. Phys.* **49** (2016) 334002.
[6] T. Kaneko, S. Sasaki, K. Takashima, and M. Kanzaki: *J. Clin. Biochem. Nutr.* **60** (2017) 3.
[7] H. Fujita, S. Kanazawa, K. Ohtani, A. Komiya, T. Kaneko, and T. Sato: *J. Appl. Phys.* **116** (2014) 213301.

© 2017年 応用物理学会