

酸化窒素ラジカル照射によるマウス線維芽細胞の成長促進

Promotion of growth of mouse fibroblasts by nitric oxide radical supplementation

○佐藤航¹, 小泉貴義¹, 村田富保¹, 堀勝², 伊藤昌文¹

○Wataru Sato¹, Takayoshi Koizumi¹, Tomiyasu Murata¹, Masaru Hori², Masafumi Ito¹

(1.Meijo Univ., 2.Nagoya Univ.)

E-mail: 140442061@ccalumni.meijo-u.ac.jp

1. はじめに

近年、プラズマを用いた農業・医療分野への応用技術が盛んに研究されている。本研究室では、非平衡大気圧プラズマを用いてミドリカビ胞子等の殺菌を行い、電氣的に中性である活性種（ラジカル）の酸素原子 $O(^3P_j)$ が殺菌因子であることを報告してきた。[1] 酸素ラジカル $O(^3P_j)$ の密度を測定することで照射量を算出し、出芽酵母では成長促進や抑制を制御したが、そのメカニズムは未だに解明されていない。また、本研究室では出芽酵母への酸化窒素ラジカルの照射量を調節することで、成長の促進および抑制することにも成功した。[2]

本研究では、ラジカル照射による細胞の成長促進の最適化を目指して線維芽細胞に対して酸化窒素ラジカルの照射量を変化させた際の、細胞生存活性への影響を調査した。

2. 実験方法

研究対象である線維芽細胞に対して酸化窒素ラジカルの照射を行った。培養した線維芽細胞に対してトリプシン処理を行い培養ディッシュから剥がし、リン酸緩衝生理食塩水 (DPBS) を用いて細胞懸濁液を作成した。この細胞懸濁液を 35 mm ディッシュに液量 3 ml 入れ、照射サンプルとした。ラジカル照射条件については、流量比 $Ar : O_2 : N_2 = 4.0 : 0.3 : 0.702$, 総流量 : 5 slm とした。その後、ラジカル照射を行った細胞懸濁液をチューブに回収し、再び DPBS を新鮮な細胞培養液と入れ替えたのち、

96 well プレートに 1 well あたりの細胞数を 10,000 個、液量を 100 μ l とし播種した。細胞を播種して温度 37 $^{\circ}$ C、 CO_2 濃度 5 % のインキュベータで 24 時間培養したのち、生細胞を吸光分光測定で評価する MTS (Multiple Target Screening) アッセイを用いて、細胞生存活性の評価を行なった。

3. 実験結果

図 1 に酸化窒素ラジカルの照射時間と細胞生存性の関係を示す。

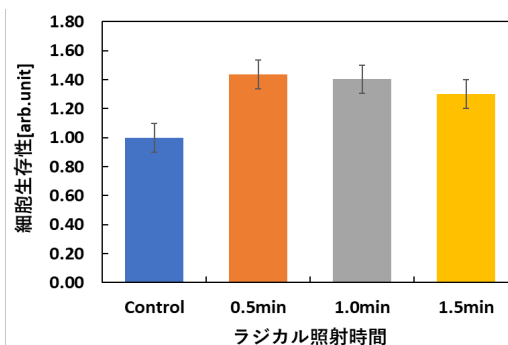


図 1. 酸化窒素ラジカル照射時の細胞生存性

横軸はラジカル照射時間、縦軸は酸化窒素ラジカル未照射 (Control) の細胞生存性を 1 とした時の比を示している。酸化窒素ラジカルを 0.5 min 照射することで、未照射のサンプルと比較して 43% の増殖促進効果が得られた。

この研究の一部は、私立大学戦略的研究基盤形成事業 (S1511021) の助成を受けて行われた。

参考文献

- [1] H. Hashizume et al., Appl. Phys. Lett., Vol. 107, 093701, 2015.
- [2] Masashi Okachi et al., The 77th JSAP Autumn Meeting, 15p-B7-2, 2016.