高効率物質導入に向けたプラズマが与える細胞膜への影響の評価

Evaluation of effects of non-thermal atmospheric pressure plasma on cell membrane for efficient substance intake

名城大[1]，○北崎 竜也[1]，熊谷 慎也[1]

Meijo Univ.[1], ○Tatsuya Kitazaki[1], Shinya Kumagai[1]

E-mail: skumagai@meijo-u.ac.jp

【はじめに】非熱平衡大気圧プラズマは生物学や医療の分野への応用に向けて活発に研究されている。その一例として、物質導入がある。プラズマを細胞に照射することで、高効率で遺伝子やタンパク質を導入できることが報告されているが[1-3]、導入機序には不明な点が多くある。導入機序の解明には、目的の物質がどのように導入されているのかという過程を明らかにする必要がある。我々はこれまでに蛍光色素を用いてプラズマ照射による導入量の違いから孔の保持時間や大きさに関する評価を行ってきた[4]。本研究では走査型電子顕微鏡（SEM）を用いて細胞膜の形態を直接的に観測し、細胞膜への影響を評価したので報告する。

【実験】マウス線維芽細胞 L929 を培養し、プラズマジェットを照射した。照射条件としては、He ガス, 流量 2 slm, 電圧 10 kV, 周波数 9 kHz である。これまでの研究で、プラズマ照射時間 13 秒より蛍光色素が導入され始めることを確認している。そこで、プラズマ照射 13 秒、より強いプラズマ照射 50 秒、そしてプラズマ未照射の 3 条件の試料を準備した。SEM 観察のための試料処理として、培養液を 2.5%グルタルアルデヒド含有 PBS に置換して 24 時間インキュベートし、t-ブチルアルコールによる凍結乾燥を行った。その後 SEM を用いて細胞の形態を詳細に観察した。

【結果および考察】プラズマ未照射では、細胞膜には孔のような構造は見られなかった。プラズマ 13 秒照射と 50 秒照射では、細胞膜上に孔のような構造が見られた(図 1)。プラズマを 50 秒照射した細胞には 13 秒の細胞と比較して直径が約 2 倍の大きさの孔が形成されていた。プラズマ照射によって細胞膜に孔が形成され、その孔の大きさはプラズマ照射時間に依存すると考えられる。

【謝辞】本研究は、科研費(19H04457)、上原記念生命科学財団の支援を受けた。

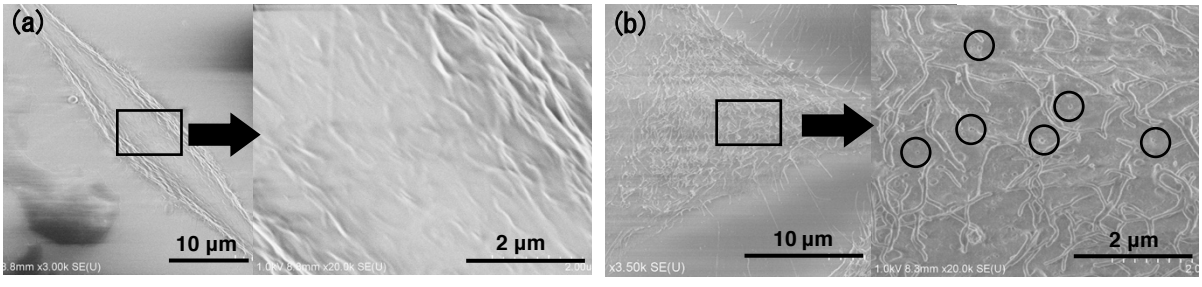

Fig. 1 SEM image of a cell (a) before and (b) after plasma irradiation.

【参考文献】[1] Ogawa et al., Biotechnol. Bioeng. **92**, pp. 865-870, (2005). [2] Yanagawa et al., PLoS One. **12**, 2, (2017). [3] Hiramatsu et al., Jpn. J. Appl. Phys. **58**, SEEG05, (2019). [4] Kitazaki et al., 第 81 回応用物理学会秋季学術講演会, 11a-Z12-6, (2020)

© 2021年 応用物理学会