

リポソームを用いたマイクロプラズマ分子導入の機序検討

Investigation for the Mechanism of Micro-Plasma Molecule Introduction using Liposomes

愛媛大院理工¹, アイジーン² ○(M2) 荻田 比呂¹, 池田 善久¹, 佐藤 晋^{1,2}, 神野 雅文^{1,2}

Ehime Univ.¹, i-Gen Corp.² Hiro Ogita¹, Yoshihisa Ikeda¹, Susumu Satoh^{1,2}, Masafumi Jinno¹

E-mail: mjin@mayu.ee.ehime-u.ac.jp

1. 序論

マイクロプラズマによる、遺伝子などの巨大分子の細胞への導入はエンドサイトーシスによるが、YOYO-1のような中分子は主としてエンドサイトーシスを介さず導入され、分子サイズによって導入機序が異なると考えられる[1][2]。本研究では、人工細胞（リポソーム）をプラズマ処理することで、生物学的膜輸送機構であるエンドサイトーシスを介さず、非生物学的応答により分子導入が生じる事を確認したので報告する。

2. 実験方法

バンガム法により調製したDPPC (Dipalmitoylphosphatidylcholine) リポソームの懸濁液と蛍光分子の溶液 (mPEG-FITC : 1 kDa) を24 wellプレートに滴下し、これを接地された銅板上にセットする。その後、極細銅電極 ($\phi=70\ \mu\text{m}$) に15 kVp-pの正弦波電圧を印加して発生させたプラズマで5 ms間サンプルを処理し、蛍光分子のリポソームへの導入の有無を蛍光顕微鏡により観察した。

3. 結果と考察

蛍光観察の結果を図1に示す。図1よりプラズマ処理を行ったサンプルで緑色蛍光を発するリポソームが確認できた。次にリポソームへの分子導入効率とMethyl- β -cyclodextrin (M β CD)によりカベオラエンドサイトーシスを阻害したヒト皮膚線維芽細胞 (HDF cell) への分子導入効率を図2に示す。図2よりどちらにおいてもプラズマ処理を行ったサンプルで導入が増加した。この結果から1 kDa程度の中分子は、エンドサイトーシスを介した生物学的膜輸送に依らずとも、プラズマ処理により脂質二重膜を透過できることが示された。今回このような非生物学的応答による導入が確認されたのは、プラズマにより生成される電荷および活性種、またはプラズマの衝撃などにより、脂質二重膜 (生体膜) の揺らぎが部分的および一時的に増大し中分子が通過可能な間隙が膜に生じたためと推測している。

4. まとめ

マイクロプラズマ処理による非生物学的膜輸送の存在を明確にするため、リポソームへの蛍光分子の導入を試みた。その結果、プラズマ処理により1 kDaの分子が非生物学的機構により膜内に輸送されることを蛍光顕微鏡およびフローサイトメトリーにより確認した。

謝辞

本研究はJSPS 科研費 (17H01068, 21H04455) の助成を受けたものです。

参考文献

[1] Y. Isozaki *et al.*, *Plasma Medicine*, **7** (4), 321-332 (2017)

[2] M Jinno *et al.*, *Plasma Sources Science and Technology*, **26** (6), 065016 (2017)

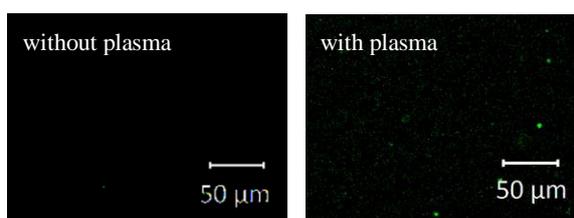


Fig.1 Fluorescence Images of the Plasma unirradiated Liposomes and Plasma irradiated Liposomes.

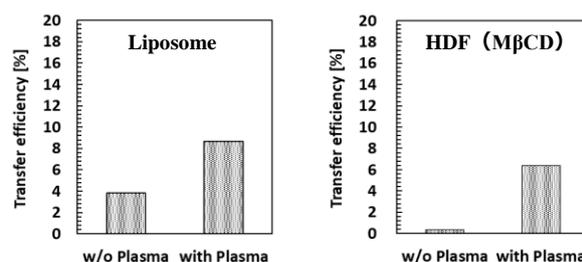


Fig.2 Transfer efficiency of liposome and HDF cell treated M β CD to 1 kDa mPEG-FICT.