

原核生物および真核生物へのプラズマ照射によるプラズマ生体応答の解明 Reactions of Prokaryote and Eukaryote Induced by Plasma Irradiation

林 信哉¹⁾, 姚 翊綺¹⁾, シティ スバエダ¹⁾, 西川達也¹⁾, 田代康介²⁾
N. Hayashi¹⁾, Y. Yao¹⁾, S. Subaedah¹⁾, T. Nishikawa¹⁾ and K. Tashiro²⁾

¹⁾ 九大総理工, ²⁾ 九大農
^{1,2)} Kyushu Univ.

1. 研究背景及び目的

原核生物である大腸菌と真核生物である酵母菌は、DNA を保護する核膜の有無や代謝を行うオルガネラなどの有無から、プラズマ照射による不活化のメカニズムが異なることが予想される。これらの差異を理解することはプラズマ滅菌におけるプラズマの作用機序の解明に大いに貢献する。本研究では、Ar や Air、O₂ といったガス種の異なるプラズマを細胞の構造が異なる大腸菌及び酵母菌に照射し、それぞれの不活化特性、成長曲線について比較検討を行うことで、プラズマ中の活性種が誘導する菌の反応、特に活性の変化を明らかにすることを目的とする。

2. 実験装置及び実験方法

セラミック管外周の接地電極とセラミック管内の筒状の金属メッシュの間に、高周波電圧を印加することでバリア放電を生成する。管内にガスを流入させることでプラズマが放出される。実験条件は印加電圧を 4.6、5.8 および 6.8 kV とし、セラミック管内の空気流量を 3 L/min 一定、原料ガスとして Ar、Air、および O₂ を使用し、3 mL のリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中の大腸菌及び酵母菌に 20 および 30 分間プラズマを照射した。プラズマ照射後の菌は寒天培地で培養し、不活化特性の比較を行った。

3. 実験結果及び考察

表 1 にプラズマを 30 分間照射した際に PBS 中に生成された液中活性種濃度と、大腸菌と酵母菌の不活化率、図 1 に大腸菌と酵母菌の不活化特性 (生残曲線) を示す。表 1 より、どちらの菌も、最も液中活性種濃度の高い Ar プラズマより、最も液中活性種濃度の低い O₂ プラズマの照射によって高い不活化率を示している。従って、液中に残留しない短寿命活性酸素種が主要な不活化因子であると考えられる。O₂ プラズマが気相中で生成する短寿命活性種として OH、HO₂、O₂⁻、O*⁻などが存在する。H₂O₂ 及び O₃ は一般的に知られる細菌不活化因子であるが、液中 H₂O₂ 及び O₃ 濃度と不活化率に相関が無いことから主要な不活化因子ではないと推察される。よって活性酸素の中でも ¹O₂、HO₂、O₂⁻、O*⁻による不活化

表 1 プラズマを照射した液中の活性種濃度と大腸菌と酵母菌の不活化率

	Ar	O ₂	Air
O ₃ (mg/L)	20	3	5
NO ₃ (mg/L)	250	0	75
NO ₂ (mg/L)	20	0	8
ClO(mg/L)	30	1	5
大腸菌の不活化率[%]	72.0	98.9	92.2
酵母菌の不活化率[%]	64.5	84.1	56.5

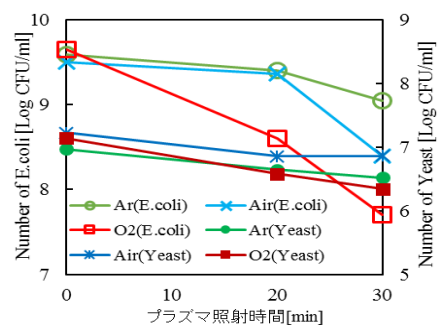


図 1 大腸菌と酵母菌の生存曲線

である可能性が示唆された。

また、表 1 より全ての条件で酵母菌の不活化率が 大腸菌よりも高く、真核生物である酵母菌は原核生物の大腸菌よりも大気圧プラズマに対する耐性が高い。この原因として、酵母菌内のミトコンドリアで産生される NADPH 等の抗酸化物質により、不活化因子である活性酸素が分解されると考えられる。

図 1 より、酵母菌の生残曲線はプラズマ照射時間に対して直線性があるが、大腸菌の生残曲線は全てのプラズマにおいて 20 min 以降で傾きが増加しており、不活化速度が時間依存的に増加している。プラズマ照射時間とともに大腸菌の細胞膜の損傷が進み細胞内への活性酸素の流入が増加することで、菌の損傷が加速すると考えられる。大腸菌は原核生物であり核膜が存在しないため、活性種が DNA や RNA に直接的に影響し不活化効果が大きくなる。それに対し酵母菌は真核生物であり、核が核膜によって保護されており、DNA や RNA が増加した不活化因子の影響を受けにくいことから、不活化効果が時間的に変化しなかったと考えられる。