

プラズマ照射溶液による細胞内への薬剤模擬分子導入の時間発展計測 Measurements of Time-dependent Change in Uptake of Pharmacon-simulated Molecules into Cells Using Plasma Irradiated Solution

鄭悦星¹, 佐々木渉太¹, 神崎展², 金子俊郎¹
Yuexing ZHENG¹, Shota SASAKI¹, Makoto KANZAKI², Toshiro KANEKO¹

¹東北大院工, ²東北大院医工
¹Dept. of Electronic Eng., Tohoku Univ., ²Dept. of Biomedical Eng., Tohoku Univ.

細胞膜輸送の制御, 特に細胞外の物質 (薬剤, 核酸, タンパク質等) を細胞内に輸送することは, 分子生物学, 医学分野において非常に重要な技術である. 筆者らはこれまでに, 大気圧プラズマを照射することで空間選択的に遺伝子・薬剤を細胞内に導入可能であることを実証してきた[1-5]. さらに, 薬剤模擬蛍光物質である YOYO-1 (分子量: 1271 Da) を輸送物質として用いた実験では, 要因の一つが大気圧プラズマ照射により生成される液中活性種であることを明らかにした. しかし, そのプラズマ生成活性種の作用機序は未だ不明な点が多い. これらを解明するため, 筆者らはライブイメージング技術を用いて, プラズマ照射溶液を添加した後の YOYO-1 導入量の時間発展を計測し, 考察したので, その結果を報告する.

実験は, 図 1 に示すように大気圧プラズマジェットを用いて行った. また, 細胞はマウス線維芽細胞 (3T3-L1) を用いた. 図 1 において, 照射距離 (d_{ele}) は拡散距離 (L_g) とガラス管先端から生理食塩水までの距離で定義され, $d_{ele} = 37$ mm, $L_g = 26$ mm に設定した. ヘリウムを原料ガスとし, 周波数 $f \approx 10$ kHz, 電圧 $V_{p-p} \approx 5$ kV の低周波電源を用いて放電させ, YOYO-1 をあらかじめ混合した生理食塩水に対して様々な条件下でプラズマ照射を行い, 細胞に滴下する (間接照射). この際, プラズマ照射 ($t_i = 2$ s) から細胞に滴下するまでの時間を保持時間 (t_r) と定義した. さらに, 照射溶液滴下から, YOYO-1 導入量 (Amount of YOYO-1 Uptake) を経時的に計測した.

図 2 に典型的な時刻における YOYO-1 導入量の保持時間 (t_r) 依存性を示す. YOYO-1 導入量は, 保持時間に強く依存しており, 特に, プラズマ照射溶液滴下 30 min 後において, 保持時間 $t_r = 30$ s は $t_r = 230$ s, 600 s と比べて, YOYO-1 導入量が多い. このことから, 照射後 30 s と 230 s の間で失活した活性種が重要な促進因子であることが示唆された.

講演では, これらの結果に加え, 液相中活性種の測定と YOYO-1 導入開始時間の変化について考察した結果も報告する.

- [1] S. Sasaki et al., *Appl. Phys. Express* **7**, 026202 (2014).
[2] T. Kaneko et al., *Biointerphases* **10**, 029521 (2015).
[3] S. Sasaki et al., *Jpn. J. Appl. Phys.* **55**, 07LG04 (2016).
[4] S. Sasaki et al., *J. Phys. D: Appl. Phys.* **49**, 334002 (2016).
[5] T. Kaneko et al., *J. Clin. Biochem. Nutr.*, in press.

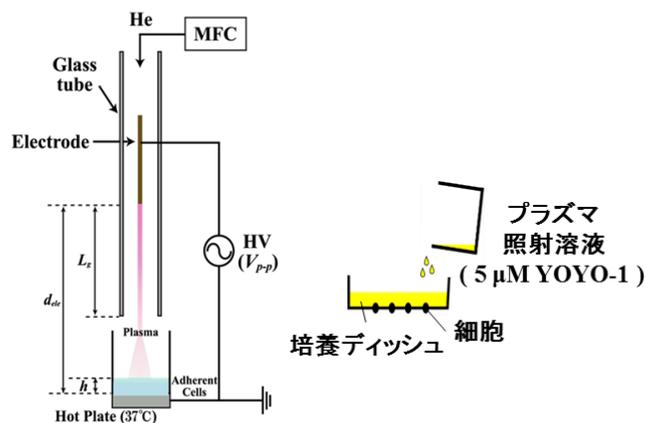


図 1. プラズマジェット装置と間接照射の概略図

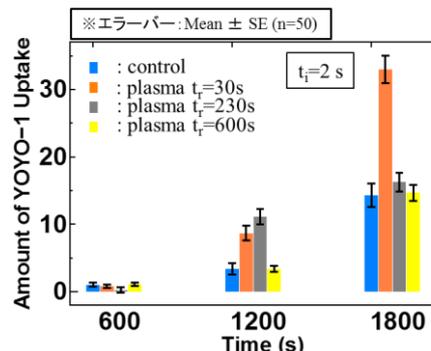


図 2. 典型的な時刻 (添加 10, 20, 30 min 後) における YOYO-1 導入量の保持時間 (t_r) 依存性 (control: gas 2 s, plasma: $t_i = 2$ s).