

Oral presentation | 8 Plasma Electronics : 8.4 Plasma life sciences

📅 Fri. Sep 20, 2024 1:30 PM - 5:00 PM JST | Fri. Sep 20, 2024 4:30 AM - 8:00 AM UTC 🏛️ A33 (TOKI MESSE 3F)

[20p-A33-1~13] 8.4 Plasma life sciences

Hiroshi Hashizume(Nagoya Univ.), Shota Sasaki(Tohoku University)

◆ Presentation by Applicant for JSAP Young Scientists Presentation Award

1:30 PM - 1:45 PM JST | 4:30 AM - 4:45 AM UTC

[20p-A33-1]

Effect of atmospheric pressure oxygen plasma on the immune response of inflammatory macrophages

○Saori Kodaka¹, Yoshihito Yagyu¹, Nobuya Hayashi¹, Reona Aijima², Yoshio Yamashita²
(1.Kyushu Univ., 2.Saga Univ.)

1:45 PM - 2:00 PM JST | 4:45 AM - 5:00 AM UTC

[20p-A33-2]

Proliferation-promoting effect of oxygen-radical-activated L-tryptophan solution on fibroblast cells

○(M2)Keito Tajima¹, Ishikawa Kenji², Hori Masaru², Ito Masafumi¹ (1.Meijo Univ., 2.Nagoya Univ.)

2:00 PM - 2:15 PM JST | 5:00 AM - 5:15 AM UTC

[20p-A33-3]

Inactivation Effect of Radical Activated Ringer's Lactate Solution on Lung Cancer Cells

○Kazane Oguri¹, Kazunari Hashimoto¹, Tomiyasu Murata¹, Hiromasa Tanaka², Masaru Hori², Masafumi Ito¹ (1.Meijo Univ., 2.Nagoya Univ.)

◆ Presentation by Applicant for JSAP Young Scientists Presentation Award

2:15 PM - 2:30 PM JST | 5:15 AM - 5:30 AM UTC

[20p-A33-4]

Evaluation of plasma-activated lactate Ringer's solution for induction of mitophagy in normal cells

○(M2)Kohei Mori¹, Kenji Ishikawa², Hiromasa Tanaka², Masaru Hori² (1.Nagoya Univ. Eng., 2.Nagoya Univ.)

2:30 PM - 2:45 PM JST | 5:30 AM - 5:45 AM UTC

[20p-A33-5]

Effects of plasma activated solutions targeting mammosphere-derived cells

○(M2)Takaya Suzuki¹, Taishi Yamakawa¹, Ayako Tanaka², Masaaki Mizuno², Shinya Toyokuni², Hiroaki Kajiyama², Kae Nakamura², Kenji Ishikawa², Masaru Hori², Hiromasa Tanaka² (1.Nagoya Univ. Eng., 2.Nagoya Univ.)

◆ Presentation by Applicant for JSAP Young Scientists Presentation Award

2:45 PM - 3:00 PM JST | 5:45 AM - 6:00 AM UTC

[20p-A33-6]

Effects of direct irradiation using He plasma jet on pig skin

○(M1)Maho Yamada¹, Kae Nakamura², Hiroaki Kajiyama², Shinya Toyokuni², Masaaki Mizuno², Kenji Ishikawa², Masaru Hori², Hiromasa Tanaka² (1.Nagoya Univ. Eng., 2.Nagoya Univ.)

3:00 PM - 3:15 PM JST | 6:00 AM - 6:15 AM UTC

[20p-A33-7]

Mechanisms of regenerative effects of planarian cultured with plasma-activated Ringer's lactate solution(PAL)

○(M2)Yota Kojima¹, Kenji Ishikawa², Hiroshi Hashizume², Masaru Hori², Hiromasa Tanaka²
(1.Nagoya Univ. Eng., 2.Nagoya Univ.)

◆ Presentation by Applicant for JSAP Young Scientists Presentation Award

3:30 PM - 3:45 PM JST | 6:30 AM - 6:45 AM UTC

[20p-A33-8]

Experimental Evaluation of Dissolution Efficiency and Nitrogen Fertilization by Air-Plasma Generated Dinitrogen Pentoxide

○(M2)Shouki Takeshi¹, Keisuke Takashima¹, Shota Sasaki¹, Atsushi Higashitani², Toshiro Kaneko¹ (1.Grad. Sch. of Eng., Tohoku Univ., 2.Grad. Sch. of Life Sci., Tohoku Univ.)

3:45 PM - 4:00 PM JST | 6:45 AM - 7:00 AM UTC

[20p-A33-9]

Evaluation of plasma-driven chemical species permeability of rice seed coat

○Takamasa Okumura¹, Heping Shi¹, Pankaj Attri¹, Daisuke Yamasita¹, Kunihiro Kamataki¹, Naoto Yamasita¹, Naho Itagaki¹, Kazunori Koga¹, Masaharu Shiratani¹ (1.Kyushu Univ.)

4:00 PM - 4:15 PM JST | 7:00 AM - 7:15 AM UTC

[20p-A33-10]

Impact of cold atmospheric pressure plasma irradiation and immediate intracellular responses in plants

○(PC)Shoko Tsuboyama¹, Takamasa Okumura², Yukiho Nagaoka³, Kanon Kitamura³, Tasuku Nakahashi³, Kazunori Koga², Masaharu Shiratani², Kazuyuki Kuchitsu^{1,3} (1.RIST, Tokyo Univ. of Sci., 2.ISEE, Kyushu Univ., 3.Appl. Biol. Sci., Tokyo Univ. of Sci.)

◆ Presentation by Applicant for JSAP Young Scientists Presentation Award

4:15 PM - 4:30 PM JST | 7:15 AM - 7:30 AM UTC

[20p-A33-11]

Growth of Diatom Stimulated by Atmospheric Pressure Plasma and Its Mechanism

○(M2)Yuma Den¹, Kazuo Takahashi¹ (1.Kyoto Inst. Tech.)

◆ Presentation by Applicant for JSAP Young Scientists Presentation Award

4:30 PM - 4:45 PM JST | 7:30 AM - 7:45 AM UTC

[20p-A33-12]

Atmospheric Pressure Plasma Treatment of Green Algae in a Biophotovoltaic

○(M1C)Takaaki Tsuchitori¹, Kazuo Takahashi¹ (1.Kyoto Inst. Tech.)

4:45 PM - 5:00 PM JST | 7:45 AM - 8:00 AM UTC

[20p-A33-13]

Effects of Atmospheric-Pressure Low-Temperature Air Plasma Jet Irradiation on Polyphenol Content in Onions

○Akira Taniuchi¹, kawakami retsuo¹, mukai rie² (1.Tokushima univ., 2.Bio,TokushimaUniv.)

大気圧酸素プラズマが炎症性マクロファージの免疫応答に及ぼす影響

Effect of atmospheric pressure oxygen plasma on the immune response of inflammatory macrophages

九大総理工¹, 佐賀大医² ◯(M2)小高 沙織¹, 柳生 義人¹, 林 信哉¹, 合島 怜央奈², 山下 佳雄²
Kyushu Univ.¹, Saga Univ.², ◯Saori Kodaka¹, Yoshihito Yagyu¹, Nobuya Hayashi¹, Reona Aijima²,
Yoshio Yamashita²

E-mail: hayashi.nobuya.056@m.kyushu-u.ac.jp

1. 研究背景および目的

体内に侵入した細菌や死細胞を取り込み、その抗原情報を他の細胞に提示する重要な役割を持つマクロファージは、感染状況により主に二種類の活性化状態に分化する。病原体への攻撃を強化する、すなわち食作用の向上促す M1 活性化と、病原体への攻撃を抑制し損傷組織の修復を促す M2 活性化である。これまで、プラズマ照射した T 細胞の上清を加え、食作用の評価と M1 マクロファージが放出するサイトカインを測定した結果、マクロファージへのプラズマ照射と T 細胞上清の添加により、炎症促進因子の増加など食作用以外の効果も得られることが明らかとなった。そこで、本研究では細胞内 ROS と NO 量の変化を調べることで、マクロファージと T 細胞の共存を模擬した系へのプラズマ照射が、サイトカイン IL-1β 産生等のマクロファージの機能に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

2. 実験方法

大気圧酸素プラズマの生成には、セラミックチューブに放電電極として ステンレスメッシュを挿入し、外側に銅テープ を巻いたものをプラズマ源として用いた。流量 0.4 slm でプラズマ源に酸素ガスを流し、交流高電圧を放電電極に印加してプラズマ照射を行った。セラミックチューブの開口端のオゾン濃度が 10, 30, 100 ppm となるように印加電圧を設定した。プラズマ照射時間は 40, 30 s とし、トーチ先端から 96 穴ウェルプレート液面までの距離を 12 mm に固定した。マクロファージ（単球）と T 細胞の両者にそれぞれ同条件でプラズマを照射した後、T 細胞培養液の上清をマクロファージに加え 24 時間培養したのちに、マクロファージの生体内で産出された ROS および NO 量を測定した。

3. 実験結果および考察

Fig.1 にマクロファージの食作用と IL-1β 放出量の気相オゾン濃度依存性を示す。横軸は T 細胞へのプラズマ照射条件である。マクロファージと T 細胞にそれぞれ 10 ppm のオゾン濃度でプラズマを照射した際に、最大約 6.3 倍という顕著な結果を示した。一方、マクロファージに対して 30, 100 ppm のプラズマを照射した場合、IL-1β 放出量は T 細胞が放出する IFN-γ 量に依存する結果が得られた。10 ppm における特異的な IL-1β 量の増加理由を考察するために、マクロファージの機能を誘導する因子である細胞内 ROS と NO 量を調査している。また、マクロファージの遺伝子発現解析を行い、プラズマ照射マクロファージの機能発現を網羅的に調べた結果についても報告する予定である。

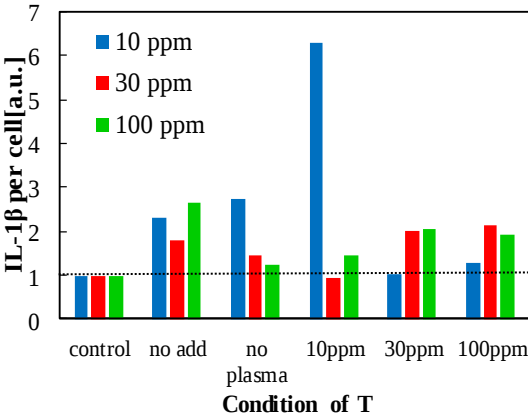


Fig. 1. Phagocytosis and IL-1β release dependence on ozone concentration

酸素ラジカル活性 L-トリプトファン溶液による線維芽細胞の増殖促進効果

Proliferation-promoting effect of oxygen-radical-activated L-tryptophan solution on fibroblast cells

名城大学¹, 名古屋大学² ◯(M2)田島 慶人¹, 石川 健治², 堀 勝², 伊藤 昌文¹

Meijo Univ.¹, Nagoya Univ.², Keito Tajima¹, Kenji Ishikawa¹, Masaru Hori², Masafumi Ito¹,

E-mail: 233427026@ccmailg.meijo-u.ac.jp

1. 導入

近年、非平衡大気圧プラズマ(NEAPP)に含まれる荷電粒子、電気的中性ラジカルなどの化学的に活性の高い種を用いた産業、農業、医療応用が注目を集めている。特に、医療分野への応用として、がん選択的殺傷、即効的創傷治療、細胞の増殖促進などが大きな注目を集めている。本研究で使用した線維芽細胞 (NIH3T3) は、皮膚組織の構造的完全性を維持する上で重要な役割を果たす。また、ヒト iPS 細胞は線維芽細胞から生成されヒト iPS 細胞にアミノ酸の一種である L-トリプトファン(L-Trp)を添加すると、細胞内代謝によりキヌレニン (KYN) や N'-ホルミルキヌレニン (NFK) と呼ばれる物質が生成される。この NFK がヒト iPS 細胞の増殖を促進することが報告されている。[1] これまでの研究で、L-Trp 溶液に NEAPP 処理することで NFK や KYN が生成されることが報告されている。[2] そこで、本研究では L-Trp 溶液を酸素ラジカルで活性化した L-Trp 溶液による線維芽細胞に対する増殖促進効果を調査する。

2. 実験手順

最初に、研究対象である線維芽細胞を 96well プレートに 1well あたり 2.5×10^4 個として播種した。細胞を播種し温度 37 °C、CO₂濃度 5 % のインキュベーターで 24 時間インキュベートした。50 mM のトリプトファン溶液を大気圧ラジカル源 (Tough plasma, FPA10, Fuji Co., Ltd.) を用いてラジカル処理した。ラジカル処理条件は、総ガス流量を 5 slm、ガス流量比 O₂ /(Ar + O₂)を 0.6 %、照射距離は 10 mm、照射時間は 5 分とした。ラジカル活性化 L-Trp 溶液をダルベッコ改変イーグル培地(DMEM)で 1, 10, 35, 100, 550 μM となるように希釈し、96 well の培地をラジカル活性化 L-Trp を添加した DMEM 培地に置換した。その後 24 時間

培養し、MTS アッセイを用いて細胞生存率を測定した。

3. 結果と考察

図 1 に酸素ラジカル活性化 L-Trp 溶液を DMEM に添加した際の、線維芽細胞の増殖促進率を示す。酸素ラジカル活性化 L-Trp 溶液濃度が 1~550 μM となるよう DMEM に添加した溶液では無添加 (control) と比較して増殖効果が得られた。添加濃度が 100 μM となる DMEM では最も高い増殖率 58.6% が得られた。これらの結果から酸素ラジカル活性化 L-Trp 溶液を DMEM に添加すると線維芽細胞の増殖効果が得られ、濃度が 100 μM 周辺で最も増殖促進効果が得られることが分かった。

今後、ラジカル活性化 L-Trp 溶液のどのような物質が線維芽細胞の増殖促進効果に影響を与えているかを LC-MS などで調査する。

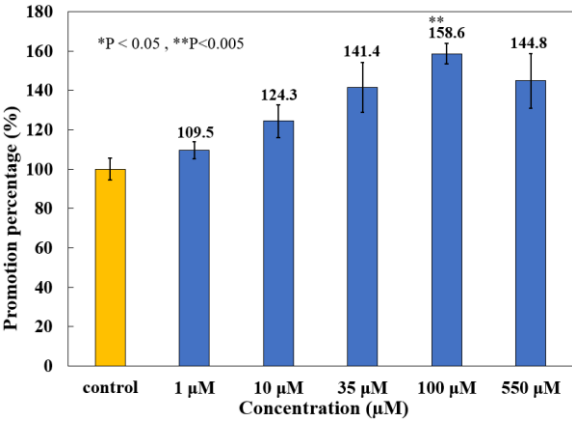


Fig. 1 Changes in cell proliferation rate depending on the concentration of oxygen radical activating L-Trp solution

謝辞:本研究の一部は、JSPS 科研費(19H05462, 22H01213)の支援を受けて実施された。

参考文献

[1] S. Someya, et al., iScience. 24(2), 19 February 2021, 102090.
[2] N. Iwata, et al., Environmental Technology & Innovation. Volume 33, February 2024, 103496.
[3] Y. Mori, et al., 2023 Jpn. J. Appl. Phys. 62, SL1016.

ラジカル活性化乳酸リンゲル液による肺がん細胞の不活化効果

Inactivation Effect of Radical Activated Ringer’s Lactate Solution on Lung Cancer Cells

名城大学¹, 名古屋大学² ○(M2)小栗 楓子¹, 橋本 和宜¹, 村田 富保¹, 田中 宏昌²,
堀 勝², 伊藤 昌文¹

Meijo Univ.¹, Nagoya Univ.², Kazane Oguri¹, Kazunori Hashimoto¹, Tomiyasu Murata¹,
Hiromasa Tanaka², Masaru Hori², Masafumi Ito¹,

E-mail:233427012@ccmailg.meijo-u.ac.jp

1. はじめに

近年、非平衡大気圧プラズマ (NEAPP)技術は産業や農業、医療分野への応用が進められている。特に、医療分野への応用が大きな注目を集めており、がんの選択的殺傷や創傷治療などに利用されている。これまでの研究において、プラズマ活性培養液(PAM)やプラズマ活性乳酸リンゲル液(PAL)により、がん細胞のみを選択的に殺傷できるという報告がされている。[1, 2, 3] しかしながら、プラズマ内のどの因子(イオン・電子・ラジカル・紫外線など)が選択的殺傷に寄与しているのか明らかになっていない。

本研究では、点滴液として用いられる乳酸リンゲル液にラジカルを照射したラジカル活性乳酸リンゲル液(RAL)を作製し、男女ともに罹患率・死亡率の高い肺がん細胞(H2228)に対する、ラジカル活性化乳酸リンゲル液の不活性化効果を調査した。

2. 実験手順

研究対象である H2228 細胞を 24well プレートに播種する。(4.0×10⁴ 個/well)。その後、温度 37℃、CO₂濃度 5 %のインキュベーターで 24 時間インキュベートした。乳酸リンゲル液 3.0 ml に大気圧ラジカル源 (Tough plasma, FPA10, Fuji Co., Ltd.) を用いてラジカル処理を行う。ラジカル処理条件は、総ガス流量 2.0 slm、ガス流量比 Ar : O₂ : N₂ = 1.4 : 0.48 : 0.12、照射距離は 10 mm、照射時間は 0, 3, 6, 8, 9, 10, 15, 30 分とした。24well プレートの well 内から培地を 1 ml 抜き、ラジカル活性化乳酸リンゲル液を 400 μl 入れ、2 時間インキュベートする。その後、再び well 内のラジカル活性化乳酸リンゲル液を全て抜き、培地 1 ml に入れ替える。その後 72 時間培養し、クリスタルバイオレットで細胞染色を行い、細胞生存率を測定した。

3. 結果と考察

図 1 にラジカル照射時間を変化させた乳酸リンゲル液で H2228 細胞を処理した際の細胞生存率を示す。

ラジカルの照射時間を 10 分以上にすると、細胞生存率が急激に低下し、照射時間が 15 分以上の時は細胞がほとんど殺傷されることが明らかになった。

これらの結果から、ラジカルの照射時間 10 分以内と 15 分以上の RAL 内の組成が大きく異なると考えられる。講演では、これらの組成の違いと正常細胞に対する殺傷効果の違いについて報告し、選択的殺傷因子について考察する予定である。

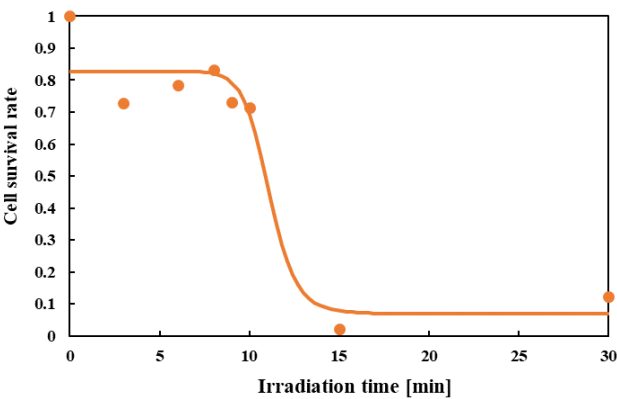


図 1 ラジカル照射時間を変化させて調整した RAL による肺がん細胞生存率の変化

謝辞

この研究の一部は、JSPS 科研費 (19H05462、22H01213)の支援を受けた。

参考文献

[1] H. Tanaka *et al.*, Sci. Rep. 9, 13657(2019).
[2] K. Nakamura *et al.*, Plasma Process Polym. 17, 1900529 (2020).
[3] D. Ito, *et al.*, Appl. Phys. Express 15, 056001 (2022).

プラズマ活性乳酸リンゲル液による正常細胞のマイトファジー誘導評価

Evaluation of plasma-activated lactate Ringer's solution for induction of mitophagy

in normal cells

名大院工¹, 名大² ◯(M2)森 皓平¹, 石川 健治², 田中 宏昌², 堀 勝²

Nagoya Univ. Eng¹, Nagoya Univ.², ◯Mori Kohei¹, Kenji Ishikawa², Hiromasa Tanaka²,

and Masaru Hori²

E-mail: mori.kohei.a7@s.mail.nagoya-u.ac.jp

はじめに 近年、長寿命化に伴いアルツハイマー病を始めとした老化関連疾患の患者数が増加している。これらの疾患は、細胞老化に伴うミトコンドリアの機能不全によって誘発されることから、機能不全となったミトコンドリア(不良ミトコンドリア)の適切な除去が、これら疾患の予防や治療において重要である。そのため、不良ミトコンドリアを除去する機構であるマイトファジーを適切に誘導する必要がある。そこで私はプラズマ活性乳酸リンゲル液(PAL)によるマイトファジー誘導促進への応用を着想した。点滴液(乳酸リンゲル液)への非平衡大気圧プラズマ照射にて作製される PAL は、ミトコンドリアに酸化ストレスを与える活性酸素窒素種(RONS)^[1]を含む。本発表では、PAL 処理した正常細胞におけるマイトファジー誘導条件を調査し、細胞生存率の結果から考察したので報告する。

実験方法 印加電圧 9 kV、周波数 60 Hz の開放系プラズマ源に流量 2 slm で Ar を供給してプラズマを生成した。乳酸リンゲル液 3 ml を入れた 35 mm ディッシュをプラズマ噴出口と液面間距離を 13 mm とし、プラズマを 20~120 秒の 20 秒間隔で照射して PAL を作製した。

各照射時間で作製した PAL を MCF-10A(正常細胞)に 1 時間処理した。その後、細胞培養液に再置換し、2 時間後に蛍光強度分析(試薬: Mitophagy Dye, 左軸)と細胞生存率測定(MTS assay, 右軸)を行った。

実験結果 プラズマ未照射の点滴液(Ctrl)を基準として、プラズマ 20~120 秒照射した PAL で処理した際の蛍光強度比を Fig. 1 に示す。PAL で処理された全条件で、Mitophagy Dye の蛍光強度が有意に増加した。特に、プラズマ 60~100 秒照射した PAL では蛍光強度が約 2 倍まで増加した。これまでの研究結果より、プラズマ 60 秒照射以上の PAL では細胞生存率が 80%程度まで減少することが分かっている。したがって、この細胞死条件における蛍光強度の増加は、PAL 内の RONS によってミトコンドリア損傷が生じたため、プラズマ照射 40 秒以下の細胞生存条件と比較して強くマイトファジーが誘導されたためと考えられる。

参考文献

[1] Swerdlow. N. S, *et al.*, Int. J. Mol. Sci. 21, 9661 (2020).

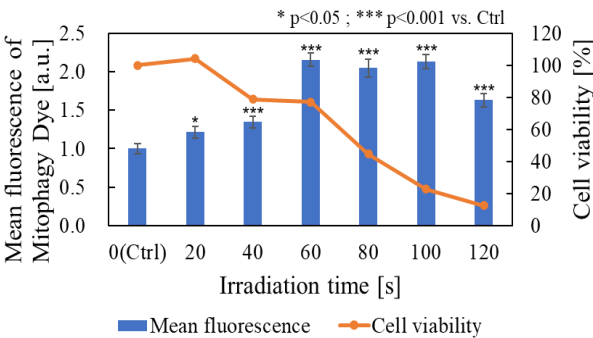


Fig.1 Mean fluorescence of MCF-10A treated by PAL

マンモスフェア由来細胞を標的としたプラズマ活性溶液の影響

Effects of plasma activated solutions targeting mammosphere-derived cells

名大院工¹, 名大² ◯(M2) 鈴木 崇矢¹, 山川 太嗣¹, 田中 文子², 水野 正明², 豊國 伸哉²,
梶山 広明², 中村 香江², 石川 健治², 堀 勝², 田中 宏昌²

Nagoya Univ. Eng.¹, Nagoya Univ.², [◯]Takaya Suzuki¹, Taishi Yamakawa¹, Ayako Tanaka²,
Masaaki Mizuno², Shinya Toyokuni², Hiroaki Kajiyama², Kae Nakamura², Kenji Ishikawa²,
Masaru Hori² and Hiromasa Tanaka²

E-mail: suzuki.takaya.k7@s.mail.nagoya-u.ac.jp

はじめに 根治を目指したがん治療応用研究において、治療抵抗性を有し、がんの転移・再発の要因として考えられるがん開始細胞(CIC)への殺傷効果を評価することは重要である。著者らはこれまでにプラズマ活性乳酸リングル液(PAL)を開発し、その成分分析や、脳腫瘍培養細胞への抗腫瘍効果と作用機序を報告してきた^[1]。私は、この新たながん治療法である PAL においても CIC 殺傷効果を調査する必要があると考え、本研究を着想した。本研究では、ヒト乳腺がん細胞株(MCF-7)を用いて、より生理学的環境下に近い細胞球塊であるマンモスフィア(MS)を形成し^[2]、CIC を多く含むと予想される MS を解離した MS 由来がん細胞(MCF-7 MS)と単層培養したがん細胞(MCF-7)に対して PAL を投与し細胞生存率の比較から PAL に対する感受性の違いを検討したので報告する。

実験方法 MCF-7 は MS 形成のため無血清・非接着条件下で7日間培養した。PAL は、プラズマ噴出口と液面との距離が 4 mm となるよう 10 ml の乳酸リングル液を設置し、電圧 15 kV、周波数 60 Hz、ガス組成 Ar 80 %、O₂ 10 %、N₂ 10 %の条件で生成されたプラズマを 5 分間照射することで作製された。作製した PAL を乳酸リングル液で 4 ~ 512 倍に希釈し、MCF-7 MS および MCF-7 に投与した。2 時間後、PAL を細胞培養液に交換し、PAL 投与から 24 時間後に MTS アッセイを行い細胞生存率を測定した。

実験結果 Fig. 1 に PAL 投与による MCF-7 と MCF-7 MS の細胞生存率の測定結果を示す。両細胞において PAL が細胞を殺傷していることが分かった。MCF-7 MS は PAL 32 倍希釈と 64 倍希釈で細胞生存率に有意差が現れた。一方、MCF-7 は 64 倍希釈と 128 倍希釈で細胞生存率に有意差が現われた。以上より、CIC がより多く含まれると考えられる MCF-7 MS は PAL への感受性が低いことが示唆された。

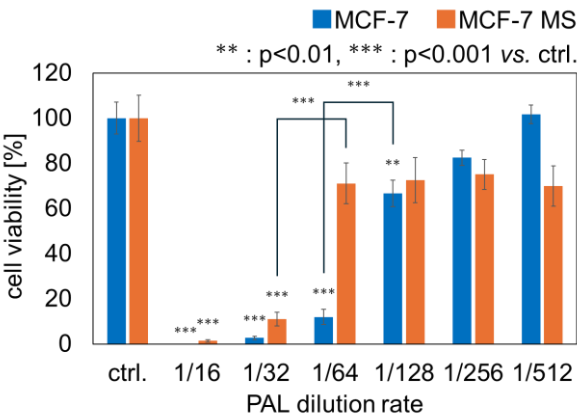


Fig.1 Cell viability after PAL treatment

参考文献 [1] H. Tanaka *et al.*, Sci. Rep. **6**, 36282(2016). [2] D. Ponti *et al.*, Cancer Res., **65**:(13), (2005)

He プラズマジェットを用いた直接照射による豚皮膚への影響

Effects of direct irradiation using He plasma jet on pig skin

名大院工¹, 名大² ○(M1)山田 真帆¹, 中村 香江², 梶山 広明², 豊國 伸哉², 水野 正明²,
石川 健治², 堀 勝², 田中 宏昌²

Nagoya Univ. Eng.¹, Nagoya Univ.², ○Maho Yamada¹, Kae Nakamura², Hiroaki Kajiyama², Shinya
Toyokuni², Masaaki Mizuno², Kenji Ishikawa², Masaru Hori² and Hiromasa Tanaka²

E-mail: yamada.maho.c9@s.mail.nagoya-u.ac.jp

はじめに：近年、大気圧プラズマの医療応用の研究が盛んに行われており、特にプラズマ直接照射による疾患治療は実際の医療現場でも行われている^[1]。本研究では、従来使用されている Ar ガスを用いたプラズマジェットではなく、He ガスを使用したプラズマジェット (PN-110TPG, NU-Rei, Nagoya, Japan) を用いて、皮膚にプラズマを直接照射した際に起こる変化とその作用機序を調べようと考えた。今回は、プラズマ直接照射による豚皮膚の変化の調査を目的に、プラズマジェットにより豚皮膚に照射を行った後、HE (Hematoxylin-Eosin) 染色による組織の変化の観察を行ったので報告する。

実験方法：電圧 7 kVpp, 周波数 60 Hz, He ガスを用いたプラズマ源を使用し、プラズマ源下部に 2 センチ角の豚皮膚を設置した。豚皮膚とプラズマ源のヘッド部との距離が 10 mm になるよう調節し、ガス流量が 1 slm、2 slm の 2 条件について、それぞれ 5, 15, 30, 60 秒間プラズマ照射を行い、計 8 条件でプラズマ照射を行った豚皮膚を作成した。プラズマ照射後の豚皮膚にホルマリン固定を施し、病理標本作製、HE 染色を行った後、倒立顕微鏡を用いて観察を行った。

結果：Fig.1 に、(a)プラズマ未照射の豚皮膚、(b)1 slm で 30 秒間プラズマを照射した豚皮膚、(c)2 slm で 60 秒間プラズマを照射した後の豚皮膚の HE 染色後の病理標本を示す。(a)と(b), (c)をそれぞれ比較すると、(b)では、写真の中央に見える細胞が白く膨らんだように変形している。さらに(c)では、豚皮膚の最上部に見える層状の組織が、押しつぶされたように変形していることが確認できる。発表では変化が生じた原因も含め、体系的に考察する。

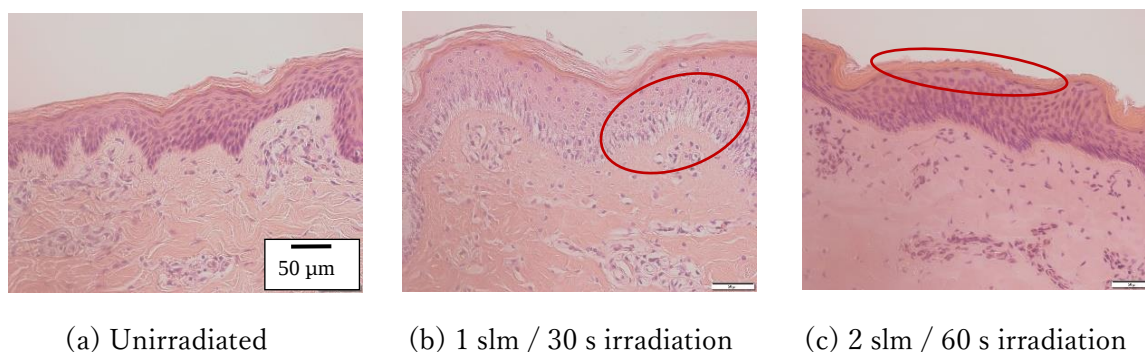


Fig.1 Image of a pathology specimen of pig skin

[1] Stephan Reuter *et al.*, J. Phys. D: Appl. Phys, **51**, 233001 (2018)

プラズマ活性乳酸リンゲル液 (PAL) が及ぼすプラナリアの再生評価

Mechanisms of regenerative effects of planarian

cultured with plasma-activated Ringer's lactate solution (PAL)

名大院工¹, 名大² ○(M2)小島 陽太¹, 石川 健治², 橋爪 博司², 堀 勝², 田中 宏昌²

Nagoya Univ. Eng.¹, Nagoya Univ.², °Yota Kojima¹, Kenji Ishikawa², Hiroshi Hashizume²,

Masaru Hori², Hiromasa Tanaka²,

E-mail: kojima.yota.j3@s.mail.nagoya-u.ac.jp

はじめに: 近年、再生医療の1つである幹細胞治療への関心が高まっており、そのモデル動物として全身に多能性幹細胞を有するプラナリアの研究が盛んに進められている。先行研究により、プラナリアはERKたんぱく質の活性勾配に応じて再生部位を決定することが知られている。^[1]また、がん細胞のERKたんぱく質の活性化をプラズマ活性培養液(PAM)が抑制することが報告されている。^[2]しかし、プラナリアの再生に対してプラズマ活性溶液が影響を及ぼすか不明瞭であるため、解明する必要がある。本実験では、切断したプラナリア(ナミウズムシ)にプラズマ活性乳酸リンゲル液(PAL)を投与し、1週間体長を測定した。

実験方法: 1週間の飢餓状態にしたプラナリアを切断し、PALで2時間処理した。PAL作成条件を以下に示す。プラズマ源は電圧15 kV、60 Hzで駆動され、ガス流量をAr, N₂ (10%), O₂ (10%)の計2 slmに調整した。また、液面-ガス噴出出口間距離を6 mmに設定した上でプラズマ源下部にセラミック製の液槽(10 mL)を設置し、乳酸リンゲル液に対して10分間プラズマ照射してPALを作成した。プラナリアの再生を画像解析により定量的に評価した。

実験結果: 2切断したプラナリアの頭部断片に対し、8倍希釈PAL処理したときの再生指数の変化をFig.に示す。ここで、再生指数とは切断直後の長さに対する再生部分の長さ比を指

す。(c)より、2切断したプラナリアはPAL処理により再生が促進される可能性が示唆された。今後は、PAL内に溶存する活性酸素窒素種(RONS)による影響を調査し、原因解明を行う。

参考文献:

- [1] Y.Umesono *et al.*, Nature **500**, 73-76 (2013)
- [2] H.Tanaka *et al.*, Plasma Medicine **2**(4), 207-220 (2012)

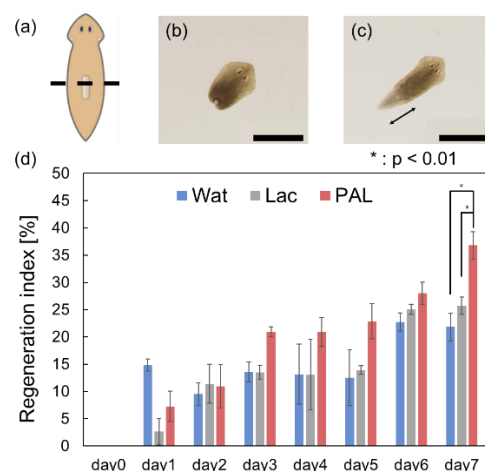


Fig. PAL affects planarian regeneration.

a, Two amputation. **b**, Planarian immediately after amputation. **c**, Planarian at 7 days of regeneration. Arrow indicates regenerated region. Scale bar is 2 mm. **d**, Regeneration index is compared after the amputation of planarian. The indexes of planarian cultured in dechlorinated tap water (Wat), Ringer's lactate (Lac), PAL are displayed.

空気プラズマ合成五酸化二窒素の溶解効率と窒素施肥効果の実験的評価

Experimental Evaluation of Dissolution Efficiency and Nitrogen Fertilization

by Air-Plasma Generated Dinitrogen Pentoxide

東北大院工¹, 東北大院生命²

◦武士 将熙¹, 高島 圭介¹, 佐々木 渉太¹, 東谷 篤志², 金子 俊郎¹

Grad. Sch. of Eng., Tohoku Univ.¹, Grad. Sch. of Life Sci., Tohoku Univ.²

◦Shouki Takeshi¹, Keisuke Takashima¹, Shota Sasaki¹, Atsushi Higashitani², Toshiro Kaneko¹

E-mail: shouki.takeshi.r5@dc.tohoku.ac.jp

植物の生育には多量の窒素が必要であるが、大気の大部分を占める窒素分子を植物は直接取り込むことが出来ないため、窒素化合物（窒素肥料）の形に変換する必要がある。現在の窒素肥料合成はハーバーボッシュ法に大きく依存しているが、原料に大量の水素ガスを用いること、合成に使用されるエネルギーの約98%が化石燃料依存であること[1]など、環境負荷や持続可能性の観点で課題がある。近年、これらの課題を解決しうるプラズマ窒素固定に関する研究が大きな注目を集めている。これまで我々の研究グループは、空気プラズマを用いた五酸化二窒素(N_2O_5)の高選択合成に成功しており[2]、これを植物に作用させることで、植物免疫の活性[3]や植物二次代謝産物の増産[4]が可能であることを示してきた。また、無水硝酸とも呼ばれる N_2O_5 は、容易に硝酸へ変換可能であることから、植物への効率的な窒素施肥効果も期待されるが、これまで定量的な実験評価はされていなかった。

そこで、本研究では、プラズマ合成 N_2O_5 の窒素施肥効果を定量的に評価するために、一般的なプラズマ活性窒素種である一酸化窒素/二酸化窒素 (NO/NO_2)と比較しながら、液中(亜)硝酸体への変換効率を実験的に評価した。また、プラズマ合成 N_2O_5 の植物直接処理やバブリング処理した培地の添加処理によって、植物に対する窒素施肥効果を検証した [5, 6]。Figure 1 に、ガス洗浄びん内の超純水 150 mL に対して、 N_2O_5 ガスと NO_x (NO/NO_2) ガスをバブリング処理した後の、硝酸イオン(NO_3^-)と亜硝酸イオン(NO_2^-)への変換効率を示す。両ガスにおける総供給窒素モル量がほとんど同程度であるにもかかわらず、 N_2O_5 は NO_x よりもおよそ 30 倍以上の窒素固定速度が得られた。気相活性種密度と液相 NO_2^-/NO_3^- 濃度の定量結果から、 N_2O_5 の溶解効率はほぼ 100%に至っていることが明らかとなった。これは、見かけのヘンリー定数が ∞ とされている理由でもある、 N_2O_5 が水と反応して直ちに NO_3^- となるという特性を反映した結果だと言える。講演では、 N_2O_5 の土壌への溶解効率や植物に対する窒素施肥効果やダメージについても議論する。

- [1] IEA Ammonia Technology Roadmap (2021)
- [2] S. Sasaki *et al.*, *Ind. Eng. Chem. Res.* **60** (2021) 798.
- [3] D. Tsukidate *et al.*, *PLOS ONE* **17** (2022) e0269863.
- [4] R. Tateishi *et al.*, *Sci. Rep.* **14** (2024) 12759.
- [5] T. Yamanashi, S. Takeshi *et al.*, *Plant Mol. Biol.* **114** (2024) 35.
- [6] S. Takeshi *et al.*, *Plasma Process. Polym.*, (2024) in press

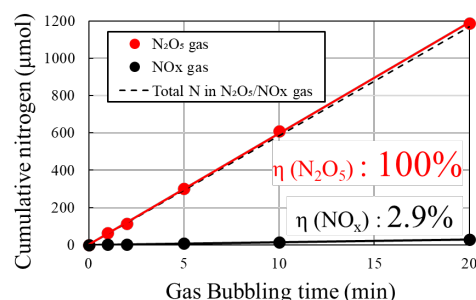


Figure 1 : Total dissolved N in a gas-washing bottle with N_2O_5 and NO_x gas.

イネ種皮のプラズマ駆動化学種透過性評価

Evaluation of plasma-driven chemical species permeability of rice seed coat

九大シス情¹、[○]奥村賢直¹、史合平¹、Pankaj Attri¹、山下大輔¹、鎌滝晋礼¹

山下尚人¹、板垣奈穂¹、*古閑一憲¹、白谷正治¹

Kyushu Univ.¹, [○]Takamasa Okumura¹, Heping Shi¹, Pankaj Attri¹, Daisuke Yamasita¹, Kunihiro Kamataki¹,

Naoto Yamasita¹, Naho Itagaki¹, Kazunori Koga¹, Masaharu Shiratani¹

E-mail: *koga@ed.kyushu-u.ac.jp

1 はじめに

大気圧プラズマ照射は新しい植物応答誘導法として注目を集めている[1,2]。これまでに、誘電体バリア放電プラズマ照射により、種子内外の分子が変動することや、化学種が種皮を透過することを明らかにした。本検討では、プラズマ起因化学種の種皮透過について照射時間依存性を基に検討した。

2 実験装置と方法

化学種の二次元分布可視化には KI-澱粉ゲル[3]を用いた。放電電極の下に、イネ種皮を挟んだ厚み1mmの穴あきアクリル板2枚を置き、その下に KI-澱粉ゲルを置いた。種粒から分離した 3×3 mm² 以上のイネ種皮をアクリル板の間に穴を覆うように置いた。電極—種皮間距離は 2 mm とした。プラズマ源は、プラズマ照射による植物応答誘導の実績を有する大気圧プラズマ電極を用いた。電極に 13 kV_{pp} および周波数 9.6 kHz の電圧を印加し、プラズマを 0, 1, 3, 5 分間発生させた。その後、ゲルのスキャン画像を ImageJ で解析し、相対化学種濃度である光学濃度 OD 値を得た。SEM によりアクリル間に固定されたプラズマ照射前後の種皮の様子を観察した。

3 結果・考察

図 1(a)にプラズマ照射後の KI-澱粉ゲルの相対化学種濃度の二次元分布のプラズマ照射時間依存性を示す。比較のため、種皮を置かない条件(種皮なし; w/o seed coat)の結果を図 1(b)に示す。図 1 から、種皮なしおよび種皮ありにおける、プラズマ起因化学種のゲル表面への到達度は、プラズマ照射時間に伴い上昇することが分かる。OD 値の積分比から化学種の輸送効率を求めると、皮なしでの照射時間 1 分を 1 としたとき、皮なしでは 3, 5 分はそれぞれ 1.47, 1.67 となり、皮あり 1, 3, 5 分はそれぞれ 0.38, 0.74, 0.91 となる。相対的な化学種濃度は、皮なしでのプラズマ照射時間 1 分の結果は、皮ありでのプラズマ照射時間 5 分の結果と近い値を示す。図 2 は 5 分間のプラズマ照射前後における種皮の同じ場所の SEM 観察像である。図 2 から、プラズマ照射後の種皮には明らかな物理的破壊がみられない。以上の結果は、プラズマ照射による種子内への化学種の輸送量が照射時間に伴い上昇すること、および化学種の透過が種皮の物理的破壊によらないことを示唆する[3]。

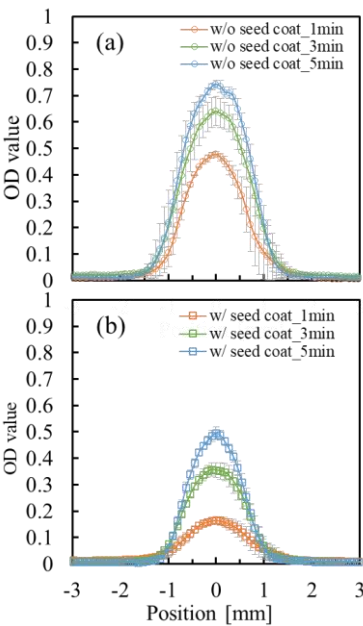


Fig. 1. Optical density with the position (a) w/o seed coat and (b) w/ seed coat.

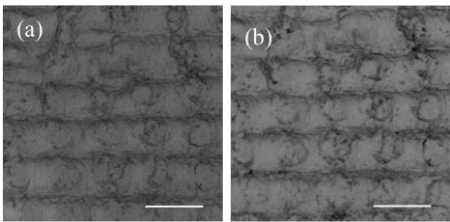


Fig. 2. SEM images (a) before and (b) after plasma irradiation for 5 min. Scale bar shows 100 μm.

謝辞

本研究は COI-NEXT 持続可能な農業生産性向上を実現するプラズマアグリサイエンス拠点 JPMJPF2302、プラズマバイオコンソーシアムプロジェクト 23-1040486、科研費 JP24H02250、JP24H02246、JP22K03586 による支援を受けた。

参考文献

[1] P. Attri et al., Processes 8(8), 1002 (2020).
[2] P. Attri et al., Agronomy 12, 1–22 (2022).
[3] T. Kawasaki et al., Jpn. J. Appl. Phys. 54(8), 6201 (2015)

植物への大気圧低温プラズマ照射効果と細胞内初期応答反応の解析

Impact of cold atmospheric pressure plasma irradiation and immediate intracellular responses in plants



東京理科大・総合研究院¹、九大・シス情²、東京理科大・創域理工・生命生物科学³

O(PC) 坪山祥子¹、奥村賢直²、長岡幸穂³、北村佳のん³、中橋侑久³、古閑一憲²、白谷正治²、
朽津和幸^{1,3}

RIST, Tokyo Univ. of Sci.¹, ISEE, Kyushu Univ.², Appl. Biol. Sci., Tokyo Univ. of Sci.³

°(PC) Shoko Tsuboyama¹, Takamasa Okumura², Yukiho Nagaoka³, Kanon Kitamura³, Tasuku Nakahashi³, Kazunori Koga², Masaharu Shiratani², Kazuyuki Kuchitsu^{1,3}

E-mail: kuchitsu@rs.tus.ac.jp; koga@ed.kyushu-u.ac.jp

植物への大気圧低温プラズマ照射が、種子発芽や植物体の成長を促進し得ることが報告されているが、その根底にある分子メカニズムは、ほとんど解明されていない。農業へのプラズマ技術活用を目指す上で、プラズマ発生装置により生成される活性種の植物に対する影響の細胞・分子レベルでの理解は極めて重要である。酸素呼吸や光合成の過程で副次的に生成される活性酸素種は、高い生体毒性を持つ。しかし、近年の研究から、活性酸素種は生体シグナル分子としても機能し、植物は厳密に制御しながら積極的に生成していることが明らかになってきた。

我々は、プラズマ発生装置由来のどの因子が、どのようなメカニズムで植物に作用するか、の解明を目指して、分子細胞生物学的解析が容易なモデル植物ゼニゴケを中心に、様々な植物材料へのプラズマ照射実験を行っている。スケーラブル DBD (SDBD) プラズマ装置を用いてゼニゴケの無性芽にプラズマ照射したところ、高電力でのプラズマ照射は成長を抑制する一方で、低電力照射では成長促進が見られ¹、ゼニゴケはプラズマ照射による栄養成長への影響を解析するための実験モデルとして有用と考えられた¹。また、顕微鏡下でのプラズマ照射が可能な小型のペン型 DBD (PDBD) プラズマ装置を用いたライブ蛍光イメージング実験系を立ち上げ、植物細胞の初期応答を解析したところ、プラズマ照射直後に植物細胞内に H_2O_2 が取り込まれ、その直後に Ca^{2+} チャンネルを介した細胞質の Ca^{2+} 濃度上昇が誘導されることが明らかとなった²。これらの実験系を基盤にして、他の植物材料への応用や、プラズマ装置由来因子を分けて植物に処理した時の応答を比較することで、プラズマ照射による植物の成長促進および抑制を支配する分子メカニズムを解明し、これらの効果に関与する因子の同定に向けて研究を進めている。

1. Tsuboyama[†], Okumura[†], Attri, Koga*, Shiratani & Kuchitsu* (2024) “Growth control of *Marchantia polymorpha* gemmae using nonthermal plasma irradiation.” *Sci Rep* 14: 3172, [†]equally contributed
2. Tsuboyama, Okumura, Watanabe, Koga*, Shiratani & Kuchitsu* “Real-time live imaging of cytosolic reactive oxygen species and Ca^{2+} of *Marchantia polymorpha* gemmalings reveal immediate initial responses of plant cells triggered by nonthermal plasma irradiation.”

https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=4822288

大気圧プラズマによる珪藻の増殖とその機構

Growth of Diatom Stimulated by Atmospheric Pressure Plasma and Its Mechanism

京工繊大 ○(M2) 田 優真, 高橋 和生

Kyoto Inst. Tech., ○Yuma Den, Kazuo Takahashi

E-mail: m3621033@edu.kit.ac.jp

研究背景・目的

近年、日本の漁獲量の減少から、水産業では養殖や栽培漁業の重要性が高まっている。養殖や栽培漁業において種苗の安定生産のために、種苗生産用餌料の必要性がますます大きくなっている [1]。一方で、大気圧プラズマによる農作物の生長促進に関する研究が広く行われている。そこで本研究では、二枚貝や甲殻類の餌料として用いられる珪藻 (*Chaetoceros gracilis*) に焦点を当て、プラズマが *C. gracilis* に与える影響について調べた。また、同時に培地に生成される OH ラジカル濃度を測定した。

実験方法

初期濃度が 7×10^4 cell/mL となるように、無菌化された *C. gracilis* を人工海水培地 (IMK, 10 mL) に添加して 1 週間培養した。大気圧プラズマ源において、キャリアガスとして流量 0.5 L/min の Ar ガスを用い、印加電圧を 2 kV としてプラズマを発生させた。*C. gracilis* が添加された培地に対して、照射時間を変化させながらプラズマを照射し、細胞密度を測定した。測定には、血球計算盤を用いた。また、プラズマ照射によって培地に生成される OH ラジカル濃度を、2 mmol/L のテレフタル酸二ナトリウム溶液を用いた化学プローブ法により測定した。

実験結果・考察

図 1 に、経過日数に対する *C. gracilis* の細胞密度を示す。照射時間が 480 s の条件における培養 5 日目の細胞密度は、未処理の条件のものと比較して 24% の増殖率を示した。図 2 に、プラズマ照射時間を変化させた際の培地の OH ラジカル濃度を示す。この結果より、照射時間に応じて培地の OH ラジカル濃度が増加すること

がわかる。培地とプラズマとの反応で生成された OH ラジカルや再結合反応により生成される過酸化水素などが、*C. gracilis* の増殖特性に影響を与えたことが示唆される。

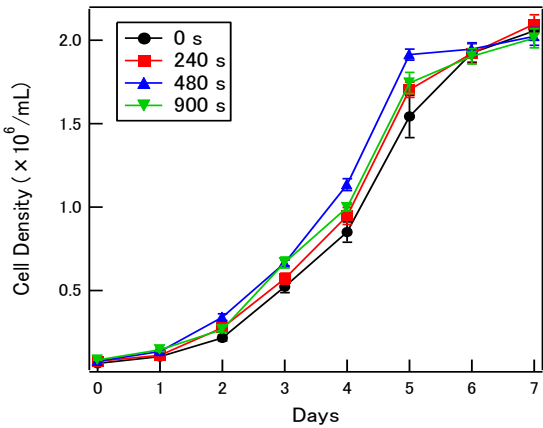


Fig. 1: Cell density as a function of culture time

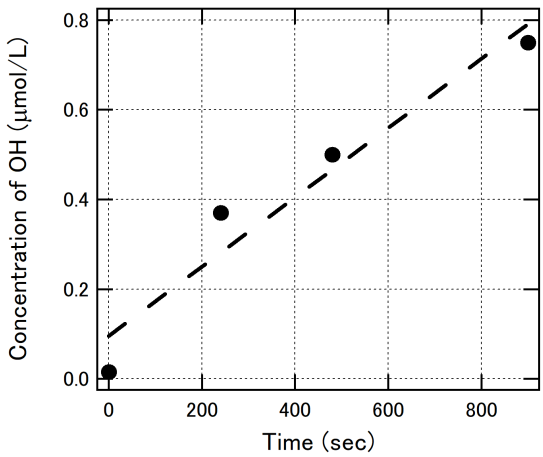


Fig. 2: Concentration of OH radical

謝辞

本研究で使用した *C. gracilis* は株式会社シードバンクにより無菌化された。

[1] S.Satoh, Nippon Suisan Gakkaishi **84**, 603 (2018)



電池を構成する緑藻への大気圧プラズマ照射

Atmospheric Pressure Plasma Treatment of Green Algae in a Biophotovoltaic

○ 土取尚瑛, 高橋和生 (京都工芸繊維大学 電子システム工学専攻)

○Takaaki Tsuchitori, Kazuo Takahashi (Dept. of Electronics, Kyoto Institute of Technology)

E-mail: m4621025@edu.kit.ac.jp

1 研究背景

藻類はエネルギー源や食料源など多岐にわたる用途で利用される持続可能な資源であり、環境と調和した社会の実現に寄与することが期待される。本研究室では大気圧プラズマの照射によって藻類の増殖を促進する研究を行ってきた。しかし藻類に対するプラズマの具体的な作用は詳しく分かっておらず、増殖メカニズムは未解明である。本研究ではプラズマ照射が藻類に与える影響を調べるため、藻類を用いた電池 (Biophotovoltaic) を応用した。この電池は藻類の光合成等の代謝によって電力が生み出されるため、その電気的特性を通じて藻類の状態を把握できる。そこで、緑藻 (*Tetradesmus* sp.) を用いた電池の起電力を調べることでプラズマ照射が藻類に及ぼす影響を調査した。

2 実験方法

アクリル製の電池容器を作製し、アノード槽に緑藻懸濁液 (AF-6/2 培地)、カソード槽に AF-6/2 培地をそれぞれ 140 mL ずつ入れ、電池を構成した。構成した電池の開放電圧とアノード槽の pH を記録した。さらに、電池を 2 つ用意し、一方の緑藻懸濁液にプラズマを照射した (印加電圧: 3 kV, 照射時間: 3 min, ガス: Ar, ガス流量: 1 L/min)。これらの電池を 12 時間ごとに明暗が切り替わるインキュベータ内に入れ、開放電圧を電圧ロガーを用いて記録した。

3 実験結果・考察

図 1 に電圧値と pH の変化を示す。電池電圧と pH は明時に上昇、暗時に下降する周期的な変化を示し、電圧値と pH に相関 ($r = 0.83$) があることが分かった。pH の変化は緑藻の光合成

と呼吸によるものであることが知られている。またネルンストの式より電池電圧を pH で表すことができる。よって、緑藻の代謝が電圧を変化させることがわかった。

図 2 にプラズマ照射及び非照射の電池電圧値の推移を示す。プラズマを照射した方の電圧は処理なしのものに比べて、電圧値の変化 (peak-to-peak) が小さくなった。このことからプラズマ照射によって緑藻の活性、とりわけ光合成や呼吸に関わる酵素や細胞小器官の活性が弱められたことが示唆された。

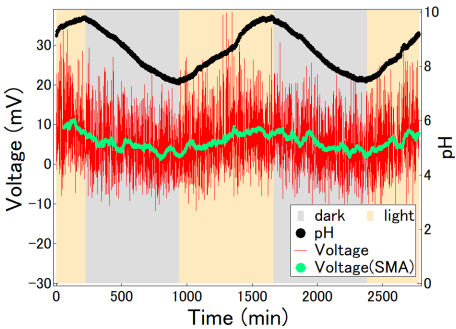


Fig. 1: Variation of voltage and pH with time under operation

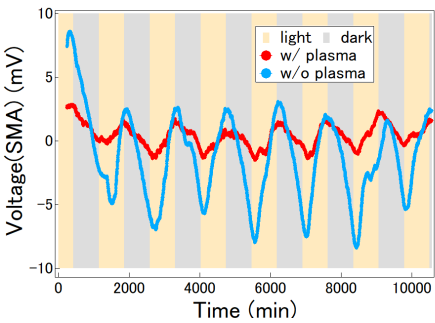


Fig. 2: Voltage variation with and without plasma treatment

謝辞

本研究で使用した緑藻 *Tetradesmus* sp. は株式会社シードバンクより提供された。

タマネギ中ポリフェノールへの
大気圧低温空気プラズマジェット照射効果

Effects of Atmospheric-Pressure Low-Temperature Air Plasma Jet Irradiation
on Polyphenol Content in Onions

徳島大理工¹, 徳島大生物資源²

○(B) 谷内 滉¹, 向井 理恵², 川上 烈生¹

Department of Science and Engineering, Tokushima Univ.¹,
Department of Bioscience and Bioindustry, Tokushima Univ.²

○Akira Taniuchi¹, Rie Mukai², Retsuo Kawakami¹

E-mail: taniuchi.akira@ee.tokushima-u.ac.jp

1. 背景と目的

機能性成分を多く含む食品を摂取する予防医療が注目されている. 我々はポリフェノールを多く含むタマネギに着目し, 大気圧低温空気プラズマジェットを局所的にタマネギへ30分間照射し3日間貯蔵すると, 各鱗茎層のポリフェノール量が増加することを見出した[1]. この増量原因として, 空気プラズマにより生成される寿命の長いNO₃⁻と考えるが, その詳細なポリフェノール増量機構は未解明である.

本研究は, 大気圧低温空気プラズマジェット照射により導入されるNO₃⁻がタマネギ中にどのように分布するのか明らかにしたことを報告する. また, 二次代謝物であるポリフェノール生産源であるタマネギ中グルコース量の変化も明らかにした. これらの結果を比較分析することにより, ポリフェノール増量機構モデルの構築を試みた.

2. 実験方法

本研究室で開発した大気圧低温空気プラズマジェットを用いた. タマネギをジェットノズルから10 mm離れた距離に置き, 装置内のガス圧を10⁴ Paまで減圧し, 流量を6 L/min, 最大6 kVのインパルス波を印加し, プラズマを30分間照射させた. その後, 暗室で3日間貯蔵(温度25 °C, 湿度90%以上)した.

タマネギ照射部の外層から内層, そして内層から外層向かって, 各可食部層をナンバリングしNO₃⁻濃度分布を分析した. NO₃⁻濃度はイオン電極法により評価した. タマネギ中の二次代謝物源のグルコース量は, 凍結乾燥したタマネギ粉末からE-kit ENZYTEC D-Glucose Sucrose D-Fructose (J. K. International Inc., Tokyo, Japan)により分析評価した.

3. 結果と考察

未照射のタマネギもNO₃⁻を有し, 各可食部層にNO₃⁻がほぼ一様に分布していた (Fig. 1). 大気圧低温空気プラズマジェットを照射すると, タマネギ中のNO₃⁻濃度は各可食部層において増加した. 特に, タマネギ内層(第4及び5番目層)においてNO₃⁻濃度が高い点が興味深い. タマネギへのプラズマ浸透深さ(数mm)だけでは説明できなく, タマネギ細胞間のplasmodesmaを通じ空気プラズマから導入されたNO₃⁻が拡散したと考える. また, タマネギ中のグルコース量は可食部のすべての部位(outer, middle, and inner parts)において, 未処理タマネギに比べ減少した.

これらの結果から, 空気プラズマにより導入されたNO₃⁻の存在が, タマネギ植物細胞のストレス感知転写因子を働かせ, 二次代謝物源のグルコースからシキミ酸回路等を経てポリフェノールが増産されたと考えられる.

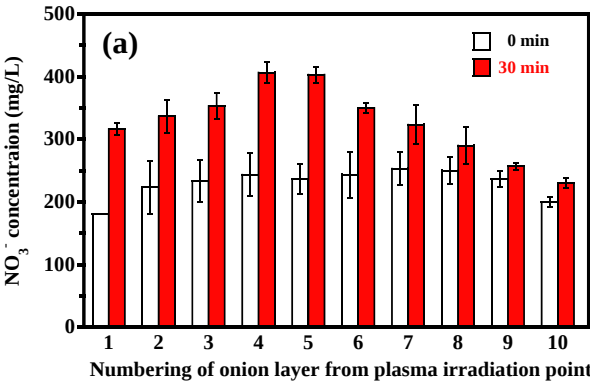


Fig. 1. NO₃⁻ concentrations in each layer of onions irradiated for 0 and 30min with air plasma.

参考文献

[1] 大橋 孝一, 十川 竜太郎, 橋村 寧々, 向井 理恵, 川上 烈生, 第84回秋季応用物理学会学術講演会, p. 07-052.