

## プラズマを照射したヒト由来細胞の膜構造変化

### Structural change of human-derived cell membrane upon plasma exposure

名城大理工<sup>○</sup>(M1)辻 隆之介, 熊谷 慎也

Meijo Univ., <sup>○</sup>Ryunosuke Tsuji, Shinya Kumagai

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

**【序論】** 大気圧非熱平衡プラズマの応用例の一つに細胞内への遺伝子導入があり, 高効率かつ低侵襲な遺伝子導入を実現し得る手法として期待されているが, その導入機序は十分に解明されていない[1]。物質が細胞内に導入される際には細胞膜を透過する必要があることから, 我々はプラズマを照射した際の細胞の変化に着目して研究を進めている。これまでマウス線維芽細胞 L929 を用いてきたが今回, 遺伝子導入に適した細胞として知られるヒト胎児腎臓由来細胞株 HEK293 を用いて実験を行い, 膜構造変化について検討を行ったので報告する。

**【実験方法】** 細胞膜は脂質二重膜を基本構造とし, その相状態は流動性が高い液体秩序 (Lo) 相と低い液体無秩序 (Ld) 相に大別される。膜脂質の相状態は蛍光色素 LipiORDER(Funakoshi)によって視覚化できる。この試薬を細胞膜に取り込ませ励起光(波長: 405 nm)を照射すると Lo 相, Ld 相でそれぞれ緑色(波長: 500-550 nm), 赤色(波長: 550-650 nm)の蛍光を示す。ゆえに蛍光顕微鏡観察を実施し, [赤色蛍光強度]/[緑色蛍光強度]の蛍光強度比で膜脂質の相状態を評価した。また蛍光画像を大津の二値化法[2]により蛍光領域と非蛍光領域に区分し, 蛍光領域のみを評価した。

マウス線維芽細胞 L929 およびヒト胎児腎臓由来細胞株 HEK293 を培養した後, 液体培地を取り除き平面型誘電体バリア放電(DBD)プラズマ源を用いて各細胞にプラズマを照射した。続いて蛍光色素 LipiORDER を加えた後, それぞれの細胞株におけるプラズマ照射時間と蛍光強度比の相関を調べた。

**【結果および考察】** L929 細胞においては, プラズマ照射時間を長くしても, 蛍光強度比に大きな変化がみられなかった。また HEK293 細胞においてもプラズマ照射時間を長くしても蛍光強度比に大きな変化がみられなかった。ゆえに, これらの実験からプラズマ照射によって物質導入プロセスを促進させる際に, 膜の相状態には大きな変化がおこらない可能性が考えられる。

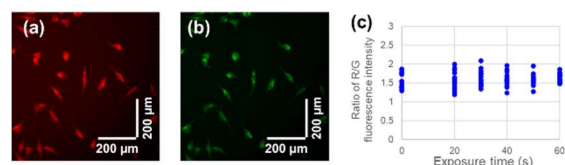


Fig.1 (a) Red and (b) Green fluorescence images (pseudo-color, Brightness: +40%), (c) R/G intensity ratio as a function of plasma exposure time of L929.

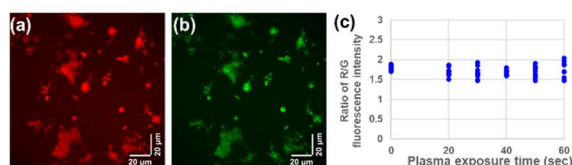


Fig.2 (a) Red and (b) Green fluorescence images (pseudo-color, Brightness: +40%), (c) R/G intensity ratio as a function of plasma exposure time of HEK293.

**【謝辞】** 本研究は, 高橋産業経済研究財団, 名古屋大学低温プラズマ科学研究センターの支援を受け実施した。

#### 【参考文献】

- [1] M.Jinno et al., Jpn. J. Appl. Phys. **60** (2021) 030502.
- [2] N.Otsu, IEEE SMC **9**(1), (1979) pp.62-66.