

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）：五十里 彰

所属機関・部局・職名：岐阜薬科大学・薬学部・副学長 兼 教授

連絡先 住所：〒501-1196 岐阜県岐阜市大学西 1-25-4

TEL：058-230-8124

E-Mail：ikari@gifu-pu.ac.jp

共同利用・共同 研究課題	和文	上皮癌バリアに対する大気圧低温プラズマ照射溶液の効果		
	英文	Effect of plasma-activated solution on epithelial cancer barrier		
研究チーム (氏名・所属 機関・部局・職 名)	和文	研究代表者	五十里 彰	
		研究分担者	原 宏和・岐阜薬科大学・薬学部・教授 遠藤 智史・岐阜薬科大学・薬学部・准教授 吉野 雄太・岐阜薬科大学・薬学部・助教	
		センター担当教員	田中 宏昌 教授・バイオシステム科学部門	
	英文	研究代表者	Akira Ikari, Gifu Pharmaceutical University, Professor	
		研究分担者	Hirokazu Hara, Gifu Pharmaceutical University, Professor Satoshi Endo, Gifu Pharmaceutical University, Associate Professor Yuta Yoshino, Gifu Pharmaceutical University, Assistant Professor	
		センター担当教員	Hiromasa Tanaka, Nagoya University, Professor	
研究実績概要 (成果等)	これまでに我々は、肺腺癌細胞に細胞間接着分子のクローディン-2 (CLDN2) が高発現し、抗癌剤抵抗性を亢進することを解明した。本研究では、CLDN2 発現、スフェロイドの低酸素・酸化ストレス、抗癌剤毒性に対する大気圧低温プラズマ照射溶液 (PAM) の効果を検討した。PAM の濃度に依存して CLDN2 発現が低下し、スフェロイドの抗がん剤毒性が増大した。スフェロイド内の低酸素・酸化ストレスの軽減が関与することが示唆された。また、CLDN2 発現に対する作用は、遺伝子発現よりもタンパク質安定性に対して強い阻害効果をもつことが示された。本研究により、PAM の新たな抗癌作用が明らかになり、癌補助療法薬としての活用が期待される。			
特筆事項 (受賞、産業財産 権出願取得状況)	なし			

上皮癌バリアに対する大気圧低温プラズマ照射溶液の効果

Effect of plasma-activated solution on epithelial cancer barrier

五十里 彰・岐阜薬科大学・薬学部・副学長 兼 教授

原 宏和・岐阜薬科大学・薬学部・教授

遠藤 智史・岐阜薬科大学・薬学部・准教授

吉野 雄太・岐阜薬科大学・薬学部・助教

田中 宏昌・名古屋大学・バイオシステム科学部門・教授

1. 研究目的

これまで共同研究者の原らは、大気圧低温プラズマ照射溶液 (PAM) が抗腫瘍効果をもつことを見出し、活性酸素種の産生、タンパク質の酸化修飾、解糖系・電子伝達系の阻害によるエネルギー産生障害が関与することを解明した (ABB, 2018 年)。癌細胞では正常細胞に比べて糖代謝機構が亢進しているため、PAM の効果が強く現れると考えられる。生体内で癌細胞は微小環境を形成し、その内部は低酸素・低栄養の慢性的なストレス状態になっている。ストレス状態は治療抵抗化や再発に寄与することが報告されているが、ストレス形成機構は大部分が不明であり、治療薬も未開発である。近年申請者は癌細胞における細胞間接着分子の発現と機能に着眼し、肺腺癌組織にクローディン-2 (CLDN2) が高発現し、解糖系のグルコース代謝とエネルギー産生の調節に関与することを発見した (IJMS, 2021 年)。さらに、微小環境を模倣した *in vitro* スフェロイド細胞を用いて、CLDN2 が抗癌剤抵抗性を亢進することを解明した (BBA, 2020 年 & BBA, 2018 年)。CLDN2 は正常肺組織に発現していないため、肺腺癌における新規治療標的として有用であると考えられる。そこで本研究では、A549 細胞を用いて、CLDN2 発現、スフェロイドの低酸素・酸化ストレス、抗癌剤毒性に対する PAM の効果を検討した。

2. 研究内容と成果

細胞培養用の DMEM 培地に低温プラズマを照射し、PAM を調製した。A549 細胞に PAM を 24 時間処理したところ、5 $\mu\text{L}/100 \mu\text{L}$ の濃度まで細胞毒性を示さなかったが、10 $\mu\text{L}/100 \mu\text{L}$ で 10%、20 $\mu\text{L}/100 \mu\text{L}$ で 70%程度の毒性があった。以降の実験では、10 $\mu\text{L}/100 \mu\text{L}$ 以下の濃度で使用することにした。

A549 細胞に PAM を 24 時間処理したところ、濃度依存的に CLDN2 のタンパク質量が減少した (図 1)。一方、CLDN1 や CLDN3 のタンパク質量は有意に変化しなかった。CLDN2 発現減少のメカニズムを解明するため、

mRNA 発現に対する効果を検討した。10 $\mu\text{L}/100 \mu\text{L}$ PAM 処理により、CLDN2 mRNA 量が 30%程度減少した。mRNA の減少率はタンパク質の減少率よりも小さかったため、

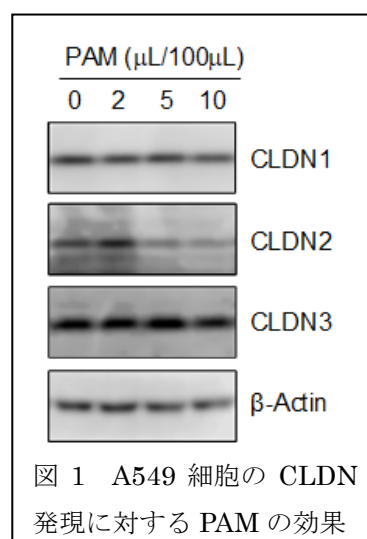


図 1 A549 細胞の CLDN 発現に対する PAM の効果

タンパク質への直接作用の関与が示唆された。そこで、タンパク質翻訳阻害剤であるシクロヘキシミド (CHX) を用いて、CLDN2 タンパク質の安定性に対する PAM の効果を検討した。CHX 処理により、CLDN2 タンパク質量が時間依存的に減少した。10 μ L/100 μ L PAM 処理により、CLDN2 の減少率が増大した。また、PAM 処理による CLDN2 タンパク質量の減少は、リソソーム阻害剤であるクロロキンの共処理により、有意に阻害された。以上の結果から、PAM は CLDN2 タンパク質の安定性を低下させ、リソソーム分解を促進することが示唆された。

低接着丸底ウェルプレートで A549 細胞を培養することにより、*in vivo* の癌凝集塊を模倣したスフェロイドが形成される。スフェロイド形成後に PAM を 24 時間処理したところ、低酸素蛍光プローブである LOX、活性酸素種蛍光プローブである CellRox の蛍光強度が減少した。スフェロイド内の低酸素および酸化ストレス状態が軽減すると考えられたが、低酸素誘導因子である HIF-1 α および酸化ストレス応答因子である Nrf2 の発現量は有意に変化しなかった。そのため、スフェロイド内の慢性ストレスに対する PAM の効果については、再検討が必要である。

次に、スフェロイド細胞を用いて、抗癌剤毒性に対する PAM の効果を検討した。アントラサイクリン系抗癌剤のドキソルビシンを処理したところ、濃度依存的にスフェロイド蓄積量が増加し、細胞生存率が減少した (図 2)。これらの効果は、PAM 共処理によって増強された。さらに、白金製剤であるシスプラチンの細胞毒性も、PAM 共処理によって増強された。

本研究により、PAM には CLDN2 の発現低下作用をもつ成分が含まれることが明らかになった。また、PAM 共処理により、スフェロイド細胞に対する抗癌剤毒性が増強したことから、PAM は肺腺癌の新たな補助療法薬になると考えられる。今後、PAM の有効成分、抗癌剤毒性の増強メカニズム、癌移植モデル動物における PAM の有効性を検証することにより、臨床における PAM の活用が期待される。

【研究成果の公表状況】

<原著論文>

- ・ 投稿準備中

<国際・国内会議>

- ・ Hiroaki Eguchi, Yaqing Yu, Yuta Yoshino, Satoshi Endo, Hiromasa Tanaka, Hirokazu Hara, Akira Ikari: Plasma-activated medium enhances anticancer drug-induced toxicity mediated by reduction of claudin-2 expression in lung adenocarcinoma, ISPlasma2023/IC-PLANTS2023, Gifu University, 2023 年 3 月 5~9 日

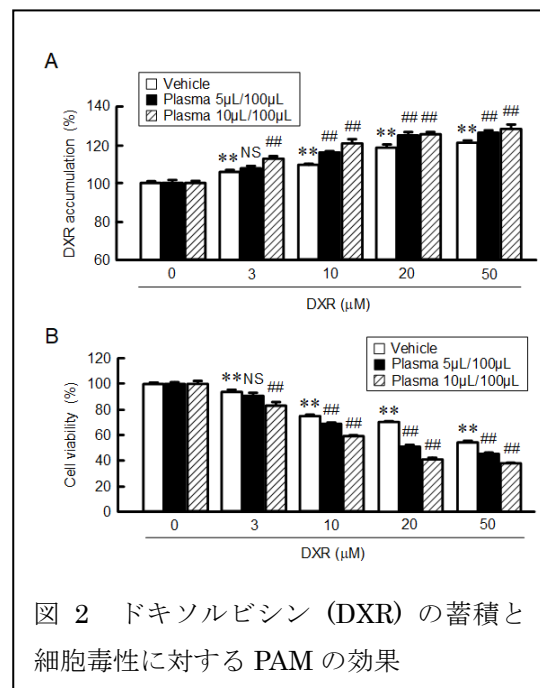


図 2 ドキソルビシン (DXR) の蓄積と細胞毒性に対する PAM の効果

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）：伊藤 昌文

所属機関・部局・職名：名城大学・理工学部・教授

連絡先 住所：〒468-8502 名古屋市天白区塩釜口1-501

TEL：052-838-2306

E-Mail：ito@meijo-u.ac.jp

共同利用・共同 研究課題	和文	プラズマとバイオ試料との相互作用解析手法の開発	
	英文	Development of methods for analyzing interaction mechanism between plasma and bio samples	
研究チーム (氏名・所属 機関・部局・職 名)	和文	研究代表者	伊藤昌文・名城大学・理工学部・教授
		研究分担者	熊谷慎也・名城大学・理工学部・教授
		センター担当教員	プラズマ科学部門：近藤 博基
	英文	研究代表者	Masafumi Ito, Meijo Univ., Professor
		研究分担者	Shinya Kumagai, Meijo Univ., Professor
		センター担当教員	Hiroki Kondo, Div. of Plasma Science
研究実績概要 (成果等)	本研究では、プラズマ中の粒子やプラズマを照射した溶液と細胞膜、アミノ酸などのバイオ試料との相互作用をセンター所有の共焦点レーザー顕微鏡、LC/MS、液中高速AFMなどを用いて解析して、以下のような成果を得た。①酸素ラジカル照射トリプトファン溶液を支持脂質二重膜に作用させることで脂質二重膜の流動性が向上し、液中高速 AFM のリアルタイム観察から膜の崩壊速度が向上することを明らかにした。②一細胞レベルでプラズマを選択的に照射する実験装置を用い、プラズマ照射強度と細胞の形態変化との相関を解析した。Multiplex CARS 顕微鏡観察と合わせて、プラズマ照射によるラマンスペクトル変化の解析を継続して行った。		
特筆事項 (受賞、産業財産 権出願取得状況 等)			

プラズマとバイオ試料との相互作用解析手法の開発

Development of methods for analyzing interaction mechanism
between plasma and bio samples

伊藤昌文・名城大学・理工学部・教授

熊谷慎也・名城大学・理工学部・教授

1. 研究目的

本研究では、プラズマ中の粒子やプラズマを照射した溶液と細胞、細胞膜、タンパク質、アミノ酸などのバイオ試料との相互作用をセンター所有の液中高速原子間力顕微鏡 (Atomic Force Microscopy :AFM)、多重コヒーレント反ストークスラマン散乱分光 (Multiplex Coherent Anti-Stokes Raman Scattering: Multiplex CARS) 顕微鏡、液体クロマトグラフィー/質量分析装置(LC/MS)等を用いて解析する手法の開発を目的とした。

2. 研究内容と成果

2.1 プラズマ及びプラズマ処理溶液と脂質二重膜、糖鎖との反応素過程解析手法の開発

一昨年度までに、プラズマ中の酸素系の活性種で処理したフェニルアラニン溶液とトリプトファン溶液で細胞膜のモデルである脂質二重膜を処理した際に生じる脂質二重膜の面内分子拡散係数の変化を蛍光退色法で測定した。その結果、フェニルアラニンでは二重膜の流動性が低下するのが確認されたが、トリプトファン溶液では二重膜の流動性が増加する結果を得た。昨年度は、酸素ラジカル処理したトリプトファン溶液を LC/MS により分析することで脂質の炭化水素鎖が切断されることが確認された。本年度は酸素ラジカルを作用させたトリプトファン溶液、トリプトファンを構成するピロール、ベンゼン、アニリンをそれぞれ含んだ溶液の面内分子拡散係数の変化を蛍光退色法で測定し、酸素ラジカル処理溶液に浸漬した脂質二重膜の分析をセンター所有の液中高速 AFM を用いてリアルタイム測定し、流動性が異なる機序の解明を目指した。

その結果、トリプトファン溶液、ピロール溶液では酸素ラジカル照射時間が長いほど脂質二重膜の流動性が向上し、アラニン溶液やベンゼン溶液では流動性の変化がほとんど見られないことを確認した。また、液中高速 AFM を用いて観測した結果、酸素ラジカル処理トリプトファン溶液とピロール溶液のみ脂質二重膜の外側から崩れていく現象を確認することができた。これらの結果と昨年度までの LC/MS の結果から酸素ラジカルとトリプトファンを構成するピロールが反応してできた物質が脂質分子と反応し分子が切断され脂質二重膜の側方分子間力を弱め、分子流動性を向上させたことが作用機序であると推察することができる。このような解析法の開発により酸素ラジカル処理活性化トリプトファン溶液による殺菌機序の一つと考えることができる重要な知見を得ることができた。

2.2 プラズマ誘起細胞内物質動的变化観察手法の開発

プラズマが細胞に及ぼす作用を明らかにするため、これまでに、独自のマイクロデバイスシステムを用いて個々の細胞にプラズマを直接照射し、細胞挙動の変化の解析を進めてきている。2022年度は特に、プラズマが実細胞の細胞膜（脂質二重膜）の相状態（脂質分子の秩序構造状態）に及ぼす影響に着目して研究を進めた。

細胞膜の相状態は、細胞膜を構成する脂質分子の秩序状態によって蛍光波長が変わる試薬（LipiORDER, フナコシ）を用いることで、評価できる。この蛍光試薬を適用すると、秩序状態にある細胞は緑色蛍光を発生し、無秩序状態にある細胞は赤色蛍光を発生する。緑色蛍光強度に対する赤色蛍光強度の比をとり、プラズマ照射強度との相関を明らかにすることを試みた。

マウス線維芽細胞 L929 を培養し、プラズマジェット装置を用いて、プラズマを照射した。プラズマ照射後の L929 細胞を蛍光顕微鏡で観察したところ、プラズマ照射時間を長くすることにつれて、赤色蛍光／緑色蛍光の強度比は増大した。つまり、プラズマによって、細胞膜を構成する脂質分子が無秩序状態に変化するという知見を得ることができた。

【研究成果の公表状況】

<国際・国内会議>

- ・浪崎高志、岩田直幸、手老龍吾、近藤博基、堀勝、伊藤昌文、“酸素ラジカル処理アミノ酸溶液の支持脂質二重膜への影響”,第16回プラズマエレクトロニクスインキュベーションホール, P-A-07, 2022年9月11日..
- ・荒木 祥多, 太田 智道, 塚越 啓央, 岩田 直幸, 堀 勝, 伊藤 昌文, “酸素ラジカル処理 L-トリプトファン溶液の成長促進生成物の評価”, 第83回応用物理学会秋季学術講演会, 20p-A106-5, オンライン, 2022年9月20-23日.
- ・安東優人, 熊谷慎也, “高効率なプラズマ物質導入のための細胞膜相状態の測定”, 第83回応用物理学会秋季学術講演会, 20a-P05-7, ポスター, 2022年9月20-23日.
- ・Shota Araki, Tomomichi Ota, Hironaka Tsukagoshi, Naoyuki Iwata, Masaru Hori, Masafumi Ito, “Growth promotion of Arabidopsis thaliana using oxygen-radical-treated L-tryptophan solution”, 11th International Conference on Reactive Plasmas / 75th Gaseous Electronics Conference (ICRP-11/GEC2022), HW6.00090, Sendai, Japan, 2022.10.3-6.
- ・Masafumi Ito, Yuta Ishikawa, Naoyuki Iwata, Tomiyasu Murata, Masaru Hori, “Interaction of Radical Activated L-Phenylalanine Solution with Fibroblast cells”, The 32nd Annual Meeting of MRS-J, International symposium: Plasma Lifesciences, L-O7-004, Yokohama, Japan, Dec.6-7, 2022.
- ・Takashi Namizaki, Naoyuki Iwata, Ryugo Tero, Hiroki Kondo, Masaru Hori and Masafumi Ito: “Time-developing observation of supported lipid bilayer in oxygen-radical-activated L-Tryptophan solution using atomic force microscope” 15th International Symposium on Advanced Plasma Science and its Applications for Nitrides and Nanomaterials (ISPlasma2023) 16th International Conference on Plasma-Nano Technology & Science (IC-PLANTS2023), Gifu, Japan, 2023.3.5-9.

- Shota Araki, Tomomichi Ota, Hironaka Tsukagoshi, Naoyuki Iwata, Masaru Hori, Masafumi Ito, “Growth promotion of *Arabidopsis thaliana* using oxygen-radical-treated L-tryptophan solution”, 11th International Conference on Reactive Plasmas / 75th Gaseous Electronics Conference (ICRP-11/GEC2022), HW6.00090, Sendai, Japan, 2022.10.3-6.
- Yuto Ando, Shinya Kumagai, “Analysis of cell membrane exposed plasma to elucidate the mechanism of plasma-assisted substance intake”, The 32nd Annual Meeting of MRS-J, International symposium: Plasma Lifesciences, L-O7-004, Yokohama, Japan, Dec.6-7, 2022.

<論文>

- Hayata Okino, Ryota Yamada, Shunta Muraki, Motonari Suzuki, and Shinya Kumagai, “Microperfusion cell culture system for promoted cell growth using non-thermal atmospheric pressure plasma exposure”, accepted in Jpn. J. Appl. Phys.

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）：内田儀一郎

所属機関・部局・職名：名城大学・理工学部・教授

連絡先 住所：〒468-8502 名古屋市天白区塩釜口 1-501

TEL：052-838-2579

E-Mail：uchidagi@meijo-u.ac.jp

共同利用・共同 研究課題	和文	低温プラズマを用いた半導体ナノ構造膜形成プロセスの開発		
	英文	Development on a process for semiconductor nano-structured films by using low temperature plasmas		
研究チーム (氏名・所属 機関・部局・職 名)	和文	研究代表者	内田儀一郎・名城大学・理工学部・教授	
		研究分担者	平松 美根男・名城大学・理工学部・教授 竹田 圭吾・名城大学・理工学部・准教授 太田 貴之・名城大学・理工学部・教授	
		センター担当教員	堤 隆嘉助教・物質科学部門	
	英文	研究代表者	Prof. Giichiro Uchida, Meijo University	
		研究分担者	Prof. Mineo Hiramatsu, Meijo University Prof. Keigo Takeda, Meijo University Prof. Takayuki Ohta, Meijo University	
		センター担当教員	Takayoshi Tsutsumi	
研究実績概要 (成果等)	<p>本研究では Li イオン電池の負極応用を視野に入れ、IV族半導体薄膜のナノ構造を制御可能な低温プラズマプロセスを開発することを目的とする。今年度の主要な成果として以下の 2 つを実証した。</p> <p>1) Si 系ターゲットを用いたスパッタリングにより、ナノ構造膜の堆積を行い、その結果、Si に Sn を添加した He ガススパッタリングで 1 次元構造の繊維状ナノワイヤー膜の堆積を実証した。</p> <p>2) Ge 系ターゲットを用いたスパッタリングにより、基板加熱なしの狭ギャップ放電で Ge ナノ結晶膜の高速成膜を実証した。</p>			
特筆事項 (受賞、産業財産 権出願取得状況 等)	特になし。			

低温プラズマを用いた半導体ナノ構造膜形成プロセスの開発

Development on a process for semiconductor nano-structured films by using low temperature plasmas

内田儀一郎・名城大学・理工学部・教授
平松美根男・名城大学・理工学部・教授
竹田圭吾・名城大学・理工学部・教授
太田貴之・名城大学・理工学部・教授
堤隆嘉・名古屋大学・大学院工学研究科・助教

1. 研究目的

次世代の高容量 Li イオン電池の実現には、Li を大量に吸蔵できる負極の開発が必要不可欠である。本研究では理論容量が従来のカーボン材料の約 5-10 倍である IV 族半導体材料 Si、Ge に着目して Li イオン電池用の高容量負極開発を行う。IV 族半導体の負電極応用に際しては、その物性に加え、クラックを抑制可能なナノ構造の探索が極めて重要となる。そこで本研究では、ナノ構造を制御可能な低温プラズマを用いた新たな材料プロセスを開発する。また、実際に様々なナノ構造膜負極を用いた Li イオン電池を評価し、電池に最適なナノ構造を明らかにする。

2. 研究内容と成果

主要な成果として 1) Si 系ターゲットを用いたスパッタリングにより、ナノ構造膜の堆積を行い、その結果、Si に Sn を添加することにより 1 次元構造のナノワイヤーを単一プロセスで作製できることを実証した。また、2) Ge 系ターゲットを用いたスパッタリングにより、基板加熱なしの狭ギャップ放電でナノ結晶膜の高速成膜を実証した。具体的な実験内容を下記に示す。

実験では Li イオン電池の負極応用を視野に入れ、Si 負極膜の電子伝導性の改善を意図し、Si スパッタターゲット(1 インチ)に Sn を添加した。RF(13.56 MHz)マグネトロンスパッタリングにより SiSn 薄膜を銅基板上に堆積した。実験条件は、ガス圧力を 100 mTorr、RF 電力を 80 W(15.8 W/cm²)、ターゲット-基板間距離を 20 mm とした。また、プラズマ生成ガスとして Ar ガスまたは He ガスを用いた。図 1(a)(b)に Ar ガス環境下と He ガス環境下で成膜した SiSn 薄膜の表面、断面 SEM 像をそれぞれ示す。Ar ガス放電成膜結果の図 1(a)から、粒径 202 nm 程度の凹凸が観測され、空隙の多い 3 次元的なナノ粒子で構成されるポーラス膜であることが明らかになった。一方、He ガス放電成膜結果の図 1(b)から、直径 287 nm 程度の 1 次元的なナノワイヤーが繊維状に堆積したポーラス膜であることが分かった。それぞれの膜密度を導出すると、図 1(a)のナノ粒子膜で 1.7 g/cm³、図 1(b)の繊維状ナノワイヤー膜で 0.18 g/cm³ となり、バルク Si の 2.3 g/cm³ と比べ非常に低く、微細構造を有するナノポーラス膜であることが明らかとなった。今回、プラズマ生成ガス種とターゲット材料を適切に選択することにより、様々なナノ形態で形成される Si ポーラス膜の作製を低温プラズマプロセスで実現した。^{1,2)}

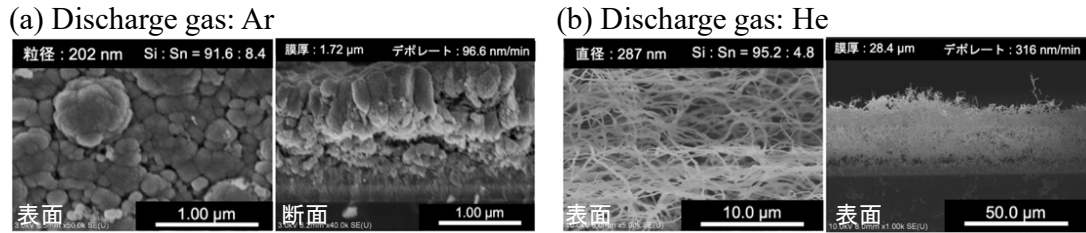


図 1: SiSn スパッタ膜の表面と断面の SEM 像。

また、Ge ターゲットを用いた実験に関して、Ar ガス圧力を比較的高めの 500 mTorr とし、ターゲットー銅基板間距離を 5 mm、10 mm、20 mm、30 mm と変化させた。その結果、図 1 のラマンスペクトル測定結果に示すように、ターゲットー銅基板間距離を 5 mm と虚ギャップとした時、 300 cm^{-1} 付近に結晶 Ge を示す鋭いピークが観測された。その 5 mm で作製した結晶 Ge 薄膜を AFM で観察したところ、写真に示すように粒径 82.1 nm のナノ粒子が分散した Ge ナノ結晶薄膜であることが明らかになった。今回、サブトルの比較的高い圧力下での狭ギャップスパッタリングにより、銅基板の加熱なしで Ge ナノ結晶の高速(660 nm/min)成膜を実証した。^{2,3)}

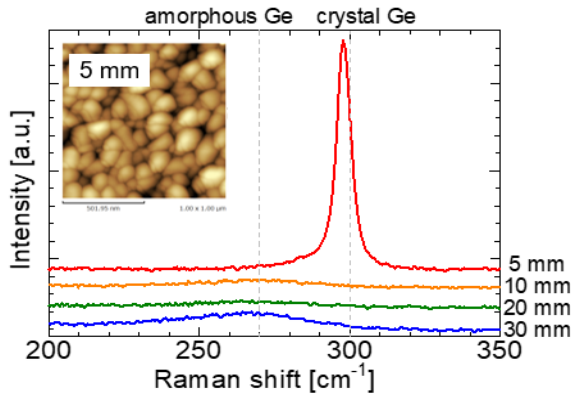


図 2: Ge スパッタ膜のラマンスペクトル測定結果。

【研究成果の公表状況】

- 1) 益本幸泰、木賀海青、山田輝也、花井稜、内田儀一郎、1次元 Si ナノワイヤ/3次元 Si ナノ粒子ポーラス膜の堆積と Li イオン電池負極への応用、第 83 回応用物理学会秋季学術講演会、東北大学 (オンラインハイブリッド開催)、2022 年 9 月 20-23 日。
- 2) G. Uchida, “Next-generation Li-ion battery achieved by the low temperature plasma process”, 75th Annual Gaseous Electronics Conference (GEC 2022), Sendai, Japan, 2022 年 10 月 3-7 日。
- 3) G. Uchida, K. Nagai, A. Wakana, Y. Ikebe, “Low-temperature and high-speed fabrication of nanocrystalline Ge films on Cu substrates using sub-Torr-pressure plasma sputtering”, IEEE Open Journal of Nanotechnology Vol. 3, pp. 153–158 (2022).

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）： 小川 大輔

所属機関・部局・職名：中部大学・工学部・准教授

連絡先 住所：〒487-8501 愛知県春日井市松本町 1200 番地

TEL：0568-51-9305 FAX：0568-51-9305

E-Mail：d_ogawa@isc.chubu.ac.jp

共同利用・共同研究課題	和文	多層カーボンナノチューブの表面修飾とプラズマ中の気相粒子との相関関係の分析		
	英文	Analysis of Relationship Between Functionalization of Multi-walled Carbon Nanotube and Plasma Species.		
研究チーム (氏名・所属機関・部局・職名)	和文	研究代表者	小川 大輔・中部大学・工学部・准教授	
		研究分担者	中村 圭二・中部大学・工学部・教授	
		センター担当教員	鈴木陽香・プラズマ科学部門	
	英文	研究代表者	Daisuke Ogawa, Chubu University, College of Engineering, Associate Professor	
		研究分担者	Keiji Nakamura, Chubu University, College of Engineering, Professor	
		センター担当教員	Haruka Suzuki, Plasma science division	
研究実績概要 (成果等)	本研究では窒素と二酸化炭素の混合ガスで生成されたプラズマ中における、気相中の窒素原子と酸素原子の数密度を測定し、また、蛍光発光法によるイソシアネート基の修飾割合を計測した。この結果、窒素と酸素原子密度が同程度になる窒素分圧が90%のとき、修飾割合が最大となることがわかった。			
特筆事項 (受賞、産業財産権出願取得状況等)	とくになし			

多層カーボンナノチューブの表面修飾とプラズマ中の気相粒子との 相関関係の分析

Analysis of Relationship Between Functionalization of Multi-walled Carbon Nanotube and Plasma Species

小川大輔・中部大学・工学部・准教授

中村圭二・中部大学・工学部・教授

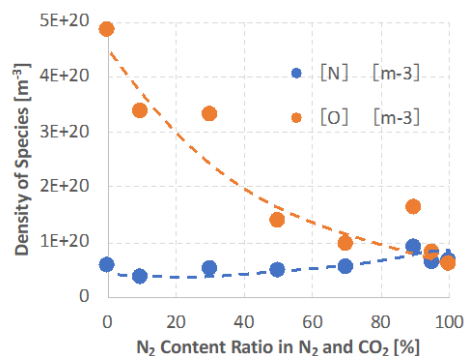
鈴木陽香・名古屋大学・プラズマ科学部門・講師

1. 研究目的

カーボンナノチューブはプラズマ処理を行うことで、その表面の官能基修飾を達成することができ、その結果、ナノチューブに化学的柔軟性を持たせることができ、その応用の幅を広げることができる。本課題では、プラズマによる多層カーボンナノチューブの表面修飾具合の制御を目的として、官能基修飾具合とプラズマ処理中のガスに存在する材料粒子の関係性について詳しく調査・分析を行った。

2. 研究内容と成果

本課題では窒素と二酸化炭素の混合ガスで生成されたプラズマにおいて、その混合割合を変えながら、気相中の窒素原子と酸素原子の数を測定した。一方、このプラズマに曝されたときの多層カーボンナノチューブのイソシアネート (NCO) 基の修飾率を、アクリジンイエローGを使用し、蛍光発光法を用いて計測・算出した。これらの結果より、窒素原子と酸素原子密度が同程度になる窒素分圧が90%のとき、イソシアネート基修飾が最大となることがわかった。



図：窒素・二酸化炭素の混合ガスで生成されたプラズマの生成時における気相中の窒素原子と酸素原子密度の混合割合による影響

【研究成果の公表状況】

- Daisuke Ogawa, Keiji Nakamura, Evaluation of isocyanate functionalization ratio on multi-walled carbon nanotubes during N₂/CO₂ plasma treatment, Japanese Journal of Applied Physics 62, SA1005 (2023).
- 村上淳弥, 武藤輝希, 熊健勲, 中村圭二, 小川大輔, 多層カーボンナノチューブにイソシアネート基修飾を最大化させるためのプラズマ中の気相粒子分析, 令和4年度電気・電子・情報関係学会東海支部連合大会, 中部大学, 2022年8月29日~30日.

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）：金子 俊郎

所属機関・部局・職名：東北大学・大学院工学研究科・教授

連絡先 住所：〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-05

TEL：022-795-7116

E-Mail：kaneko@tohoku.ac.jp

共同利用・共同 研究課題	和文	短寿命活性種を含むプラズマ—液体界面の物質輸送モデルの構築	
	英文	Formulation of substance transport model at plasma-liquid interface including short-lived reactive species	
研究チーム (氏名・所属 機関・部局・職 名)	和文	研究代表者	金子 俊郎
		研究分担者	佐々木 渉太（東北大学・大学院工学研究科・助教） 高島 圭介（東北大学・大学院工学研究科・助教） 本田 竜介（東北大学・大学院工学研究科・PD） 武田 一希（東北大学・大学院工学研究科・大学院生）
		センター担当教員	石川 健治・プラズマ科学部門
	英文	研究代表者	Toshiro Kaneko
		研究分担者	Shota Sasaki (Assistant Prof., Tohoku Univ.) Keisuke Takashima (Assistant Prof., Tohoku Univ.) Ryosuke Honda (PD, Tohoku Univ.) Kazuki Takeda (Grad. Student, Tohoku Univ.)
		センター担当教員	Kenji Ishikawa・Plasma science division
研究実績概要 (成果等)	本研究では、低温大気圧プラズマの医療・農業応用を推進する上で欠かせない知見であるプラズマ(気体)—液体界面の物質(活性種)輸送機構を明らかにすることを目的として、実験を行った。液体を細くかつ高速化した高速微細液中をプラズマ中に導入するという独自の実験系により、これまで困難であった、極短寿命活性種 OH ラジカルの時空間分布の実験的観測と、それを説明可能な理論モデルの構築に成功してきた。今年度は、OH ラジカルとは全く異なる時間オーダーで減衰する液相 N ₂ O ₃ を観測することに成功し、液体と接する低温プラズマ応用において重要な知見を得た。		
特筆事項 (受賞、産業財産 権出願取得状況 等)			

短寿命活性種を含むプラズマ—液体界面の物質輸送モデルの構築

Formulation of substance transport model at plasma-liquid interface including short-lived reactive species

金子 俊郎・東北大学・大学院工学研究科・教授
 佐々木 渉太・東北大学・大学院工学研究科・助教
 高島 圭介・東北大学・大学院工学研究科・助教
 本田 竜介・東北大学・大学院工学研究科・PD
 武田 一希・東北大学・大学院工学研究科・大学院生
 石川 健治・名古屋大学・プラズマ科学部門・教授

1. 研究目的

近年、低温大気圧プラズマを用いた革新的医療・農業応用が多数報告されている。多くの場合、液相と接触する低温プラズマが用いられ、液相中に作られる活性種や反応後の活性有機物が作用因子とされている。しかしながら、プラズマ（気体）—液体界面の物質／エネルギー輸送には未だ不明な点が多く、このことがプラズマの作用を完全に理解し制御できない理由であると考えられる。本研究では、プラズマ中の気相活性種と溶液中の液相活性種を観測し、プラズマ（気体）—液体界面の物質（活性種）輸送を明らかにすることを目的とする。申請者はこれまで、FT-IR や LIF を用いた気相活性種の測定や吸収・蛍光分光や ESR を用いた液相活性種の測定を行ってきた。さらに、液体を細くかつ高速化した高速微細液中をプラズマ中に導入するという独自の実験系を確立し、極短寿命活性種の一つである液中 OH ラジカルの減衰を捉えることに成功してきたが、これまで観測できていない短寿命活性種を新たに測定し、プラズマ—液体界面の物質輸送モデルの構築を目指す。

2. 研究内容と成果

当該年度も引き続き、サブミリ秒オーダーでの高時間分解計測が可能な高速微細液流導入プラズマ装置を用いた [図 1 (a), (b)]. このプラズマ源は、比較的均一なプラズマ—液体界面を形成しており、10 m/s を超える高速流によって、1 ms 以下のオーダーで消えていく短寿命活性酸素種 (ROS)・活性窒素種 (RNS) の非常に速い減衰を、位置変化として捉えることが可能となっている。さらに、この 10 m/s という速度は、等方拡散やプラズマ誘起流の速度に比べはるかに大きいため、鉛直方向において、これらの影響を無視できる実験系となっている。

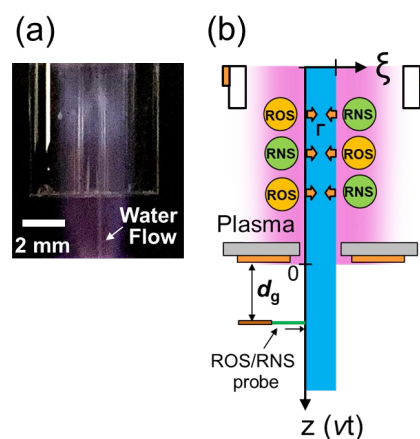


図 1: 高速微細液流導入プラズマ装置の(a)写真と(b)概略図。

図 1(b)の試薬流（緑色）として、OH ラジカルの測定には、テレフタル酸 (TA) を使用し、各位置で衝突混合させて、回収したヒドロキシテレフタル酸 (HTA) の量を定量していた。今年度は、前年度に引き続き、短寿命 RNS 捕捉剤として p-ヒドロキシフェニル酢酸(p-HPA) を試薬流として用い、新たに導入した高速液体クロマトグラフにより、 NO_3^- と NO_2^- の超高感度同時定量を行った。p-HPA によって短寿命 RNS が捕捉された分だけ、最終生成物 NO_3^- や NO_2^- の蓄積濃度が減少すると考えた。

図 2 に、蓄積 NO_2^- 及び NO_3^- 濃度とその差分から算出した各前駆体濃度の試薬注入距離 (d_g) 依存性を示す。 d_g を短くすると、 NO_3^- に比べて NO_2^- のみが顕著に減少した。すなわち短寿命 RNS の殆どは最終的に NO_3^- ではなく NO_2^- へと行きつく NO_2^- 前駆体である可能性が明らかとなった。短寿命 RNS の候補として、 NO_2^- のみに加水分解する N_2O_3 と NO_2^- と NO_3^- に等量ずつ加水分解する N_2O_4 が考えられるが、今回の結果は、捉えた短寿命 RNS のほとんどが N_2O_3 であることを強く示唆する結果といえる。さらに、今回得られた半減期は、2~3 ms と見積もられ、報告されている N_2O_3 加水分解の反応速度定数から算出した半減期 (~ ms) と良い一致を示した。

以上より、プラズマ生成 N_2O_3 を実験的に捉えたといえる強い証拠を得た。これまで、プラズマ生成した液相 $\text{HNO}_2/\text{NO}_2^-$ は、気相 HNO_2 の溶解や OH と NO の気液界面反応由来であると考えられてきたが、今回の結果は、 NO_2^- の約 40%以上が N_2O_3 由来であることを示しており、プラズマ誘起液相反応場解明に向けた重要な結果といえる。

【研究成果の公表状況】

<国際・国内会議>

- ・ K. Takeda, S. Sasaki, K. Takashima, and T. Kaneko, "Evaluation of Short-Lived Reactive Species Decay Using High-Speed Water Flow in Contact with Atmospheric Pressure Plasma", 2022 MRS Spring Meeting & Exhibit, Honolulu, Hawaii, USA, 2022/05/11.
- ・ K. Takeda, S. Sasaki, K. Takashima, and T. Kaneko, "Atmospheric Pressure Plasma in Contact with High-speed Water Flow for Evaluating Liquid-phase OH Transport", The 75th Gaseous Electronics Conference & 11th International Conference on Reactive Plasmas, Sendai, Miyagi, Japan, 2022/10/06.
- ・ 武田 一希, 佐々木 渉太, 高島 圭介, 金子 俊郎, "プラズマ—高速水流を用いた液相短寿命活性窒素種減衰の実験的検出", 第 70 回応用物理学会春季学術講演会, 東京都新宿区, 2023/03/18.

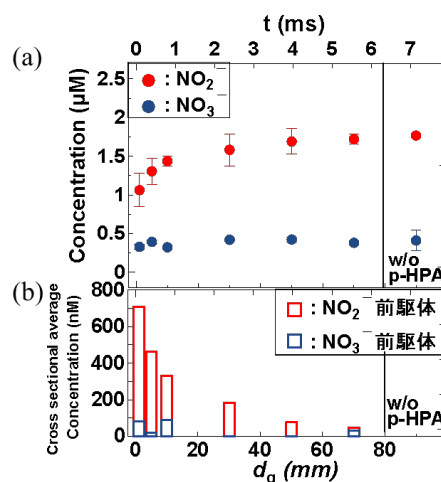


図 2: (a) 蓄積 NO_2^- , NO_3^- 濃度の試薬注入距離 (d_g) 依存性。
(b) 前駆体濃度の d_g 依存性。

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）：川崎 仁晴
 所属機関・部局・職名：佐世保工業高等専門学校・電気電子工学科・教授
 授連絡先 住所：〒857-1193 長崎県佐世保市沖新町1-1

TEL：0956-34-8468

E-Mail：h-kawasa@sasebo.ac.jp

共同利用・共同 研究課題	和文	粉体ターゲットを用いたスパッタリング法による傾斜機能性半導体薄膜の作製に関する研究	
	英文	Preparation of hydrogen embrittlement prevention semiconductor film by sputtering deposition using powder target	
研究チーム (氏名・所属 機関・部局・職 名)	和文	研究代表者	川崎 仁晴・佐世保高専・電気電子工学科・教授
		研究分担者	大島多美子（佐世保高専）、柳生義人（佐世保高専） 猪原武士（佐世保高専）、日比野祐介（佐世保高専） 西口廣志（佐世保高専）
		センター担当教員	大野 哲靖 教授・プラズマ科学部門
	英文	研究代表者	Hiroharu Kawasaki
		研究分担者	Tamiko Ohshima, Yoshihito Yagyu, Takeshi Ihara, Yuusuke Hibino, Hiroshi Nishiguchi
		センター担当教員	Noriyasu Ohno
研究実績概要 (成果等)	<p>1. プラズマプロセスを用いた水素脆化に関する研究成果を以下の学会で報告した。</p> <p>(1) プラズマ核融合学会年会 24Ap04 2022年11月24日 富山国際会議場、</p> <p>(2) AFM2022 The Kyushu University, Centennial Hall, January 11th, 2023 等、計13件</p> <p>2. 下記の論文を投稿、掲載された。</p> <p>1) Tahahiko Satake, Hiroharu Kawasaki and Shinichi Aoqui, Preparation of Ti and Fe composition gradient thin films by sputtering with mixed powder targets, e-Journal of Surface Science and Nanotechnology, (2022, to be published)</p> <p>2) Tahahiko Satake, Hiroharu Kawasaki and Shinichi Aoqui, Indium-gallium-zinc oxide thin-film preparation via single-step rf sputter deposition using mixed-oxide powder targets ARCHIVES OF ELECTRICAL ENGINEERING (2022, to be published)</p>		
特筆事項 (受賞、産業財産 権出願取得状況 等)	なし		

粉体ターゲットを用いたスパッタリング法による水素脆化防止膜の作製

Preparation of hydrogen embrittlement prevention film by sputtering deposition
using powder target

川崎仁晴・佐世保工業高等専門学校・電気電子工学科・教授

大野哲靖・名古屋大学工学研究科電気工学専攻・教授

1. 研究目的

水素の侵入により構造物が脆く壊れる「水素脆化」は、金属材料の最大の破壊要因であり、その損失は GDP の 1% (数兆円) 以上とも言われている。さらに「水素エネルギー」関連機器は、常に高圧の水素ガスに晒されるため関連機器は耐水素脆化能力をもつ高価な金属を利用しており、水素エネルギー利用普及を妨げる要因の一つとなっている。我々は以前よりこれを解決するため、水素脆化防止薄膜の作製を行っている。例えば、ステンレス鋼 SUS316L やアルミニウム合金 A6061-T6 でコーティングする研究をおこない、80%以上の水素脆化防止効果があることと明らかにした。しかしながら、さらに安価な SUS304 等の母材に対しては、薄膜と母材の界面構造が大きく異なるため効果は小さく、薄膜の剥離などの問題も発生した。本研究では、数種類の粉体ターゲットをもちいたプラズマプロセスで、基板と薄膜の界面ではより密着性がよく、高圧水素に密着する薄膜側では水素脆化防止効果が高いような傾斜機能性薄膜の作製を試みた。

2. 研究内容と成果

実験装置は昨年と同じ通常の高周波マグネトロンスパッタリング薄膜作製装置を改造したものを利用した。母材には SUS304 を用い、その上にターゲットとして水素脆化効果の高い金属薄膜を、膜厚方向に組成比を変えながら作製した。今回は TiO_2 粉体と SUS304 粉体の混合粉体を用い、Ti/SUS304 の組成比を変えて薄膜を作製した。成膜条件は、雰囲気ガスとして Ar、圧力を 10Pa とし、入力は 100W で 1 時間成膜した。作製した薄膜は X 線光電子分光分析法 (XPS: 日本電子製: JPS9010) と同装置の Ar イオンによるデプスプロファイルを用いて解析した。図 1 にはラングミュアプローブを用いて測定したプラズマ中の電子温度および電子密度のターゲット組成比依存性を示す。結果から電子温度はほぼ一定、電子密度は組成比の向上とともに少し増加することがわかった。

図 2 には作製した薄膜の表面形状を示す。薄膜は島状の膜であり、その表面は TiO_2 の混合比が大きくなるほど大きくなることが分かる。図 3 は XPS で作製した結晶性の混合比依存性を示す。TiO₂ の混合比が大きくなるほど TiO₂ のアナターゼピークが鋭くなることが分かる。

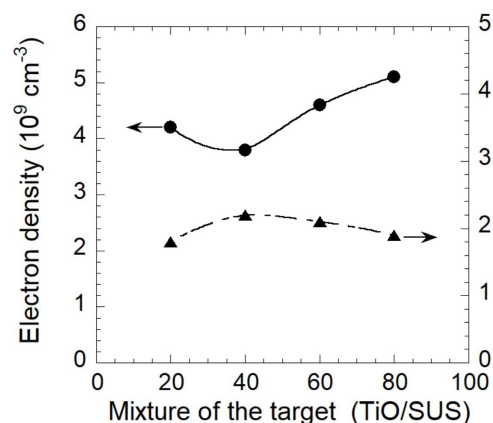


図 1 電子温度、電子密度のターゲット混合比依存性

図4に、作製した薄膜の膜中のNi/Feの組成比とターゲットの混合比の関係を示している。結果から、ターゲット粉体中のTiO₂/SUSの組成比を制御することで、薄膜中のTi/SUS組成比は制御できることが示唆された。図5にはNiO₂とSUS粉体を用いた作製した傾斜機能性薄膜のXPS分析結果を示す。薄膜最表面はTi基板側に進むにつれてFe成分が多くなる傾斜機能成膜が作製されていることが分かった

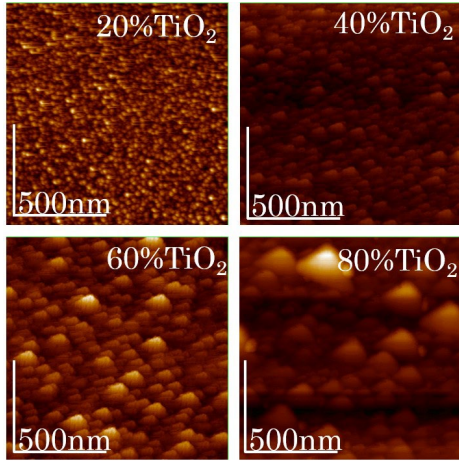


図2 AFMで観測した作製した薄膜の表面形状

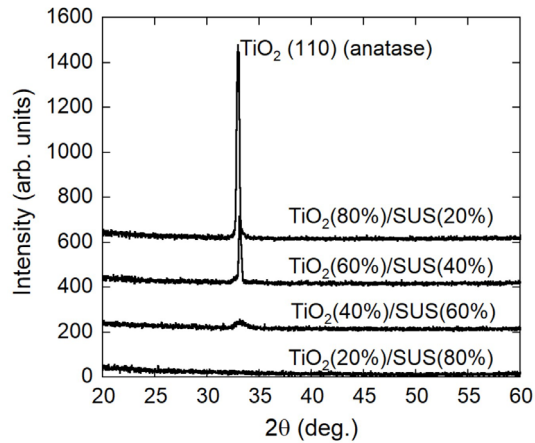


図3 TiO₂とSUSの混合粉体を用いて作製した薄膜のXRD分析結果

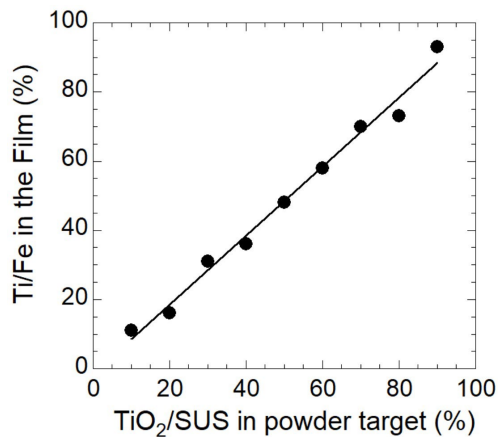


図4 膜中のTi/Feの組成比のターゲット混合比依存性

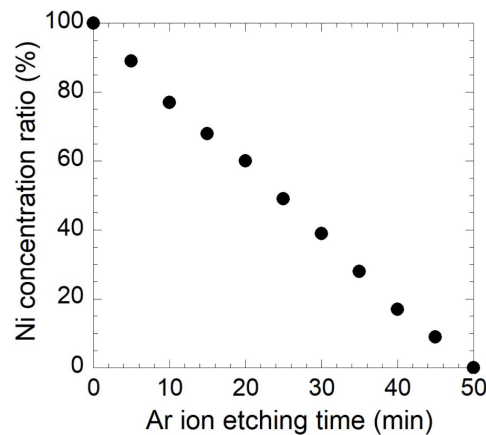


図5 TiO₂とSUSの混合粉体を用いて作製した傾斜機能性薄膜のXPS分析結果

【研究成果の公表状況】

1)Tahahiko Satake, Hiroharu Kawasaki and Shinichi Aouki, Preparation of Ti and Fe composition gradient thin films by sputtering with mixed powder targets, e-Journal of Surface Science and Nanotechnology, (2022, to be published), 2)Tahahiko Satake, Hiroharu Kawasaki and Shinichi Aouki Indium-gallium-zinc oxide thin-film preparation via single-step rf sputter deposition using mixed-oxide powder targets, Archives of Electrical Engineering (2022, to be published)

<国際・国内会議> (11pt 明朝体, Times)

(1) プラズマ核融合学会年会 24Ap04 2022年11月24日 富山国際会議場、(2) 第43回ドライプロセス国際シンポジウム (DPS2022) P-23 2022年11月24, 25日 大阪大学 (HYBRID) 等、計13件

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）： 近藤伸一

所属機関・部局・職名：岐阜薬科大学・薬学部・教授

連絡先 住所：〒501-1196 岐阜市大学西 1 丁目 25 番地 4

TEL：058-230-8114

E-Mail：skondo@gifu-pu.ac.jp

共同利用・共同研究課題	和文	大気圧プラズマを用いた高分子表面改質に関する基礎研究	
	英文	Fundamental study on polymer surface modification with atmospheric pressure plasma treatment	
研究チーム (氏名・所属機関・部局・職名)	和文	研究代表者	近藤伸一・岐阜薬科大学・薬学部・教授
		研究分担者	土井直樹・岐阜薬科大学・薬学部・講師
		センター担当教員	石川健治・プラズマ科学部門
	英文	研究代表者	Shin-ichi Kondo
		研究分担者	Naoki Doi
		センター担当教員	Kenji Ishikawa
研究実績概要 (成果等)	本研究では、窒素ガスを用いた低圧プラズマ照射により生成するラジカルの ESR スペクトル測定と、スペクトル解析によりラジカルの構造解明を目指した。6 種類のモデル高分子に N ₂ プラズマ照射を行い、継時的に ESR スペクトル測定を行った。その結果、5 種類のモデル高分子では Ar プラズマ処理と本質的に同じ ESR スペクトルが観測された。一方、ポリエチレンテレフタレート (PET) では N ₂ プラズマと Ar プラズマ処理では構成ラジカルの比率が異なり、N ₂ プラズマ照射をした場合にはダングリングボンド (未結合手) の生成が抑制されることが示唆され、Ar プラズマよりも架橋反応が進行しにくいことが示唆された。		
特筆事項 (受賞、産業財産権出願取得状況等)			

大気圧プラズマを用いた高分子表面改質に関する基礎研究

Fundamental study on polymer surface modification

with atmospheric pressure plasma treatment

近藤伸一・岐阜薬科大学・薬学部・教授

土井直樹・岐阜薬科大学・薬学部・講師

石川健治・名古屋大学・工学部・教授

1. 研究目的

大気圧プラズマでは、プラズマが大気（主に窒素や酸素）とも反応し、高分子表面処理を行うことから、低圧プラズマ表面処理よりもより複雑な反応が起きていると予想される。本研究では、種々の高分子表面への大気圧プラズマ照射により惹起される表面変化を、窒素ガスを用いる低圧プラズマ表面処理との比較により明らかにし、大気圧プラズマの表面処理特性の解明を目指す。本申請者らは、これまでアルゴンガスあるいは酸素ガスを用いた各種高分子への低圧プラズマ表面処理による表面改質を行っており、生成するラジカルの構造についても明らかにしている。したがって、各種高分子表面への窒素ガスを用いた低圧プラズマ表面処理による生成ラジカル構造の解析を含む系統的な解析を行うことが可能であり、その知見を基に大気圧プラズマ表面処理の特性を明らかにする。

2. 研究内容と成果

空気中での大気圧プラズマ照射では、生成したラジカルが酸素と速やかに反応して消失するため ESR スペクトル測定は困難である。そこで、窒素ガスを用いた低圧プラズマ照射により生成するラジカルの ESR スペクトル測定と、スペクトル解析によりラジカルの構造を明らかにすることを本年度では実施した。これまでにアルゴンプラズマ照射により生成ラジカルの構造をすでに明らかにしている、ポリメタクリル酸メチル (PMMA)、ポリメタクリル酸 (PMAA)、ポリスチレン (PSt)、低密度ポリエチレン (LDPE)、高密度ポリエチレン (HDPE)、ポリエチレンテレフタレート (PET) をモデル高分子として用いた。

(実験方法)

50ml のガラス製アンプルに各種モデル高分子を 50 mg 入れ、アンプル先端部分を 5 mm 程度のキャピラリー状にした後、0.5orr の窒素を封入し、アンプル先端部分を封緘した。13.56MHz の誘導結合式プラズマ照射装置を用いて、照射出力 30W にて経時的にプラズマ照射を行い、ESR スペクトル測定を行った。

(結果・考察)

図 1 は、PMMA、PMAA、HDPE、LDPE、および PSt に N₂ プラズマ照射をしたとき

に観測された ESR スペクトルである。本研究で観測された ESR スペクトルは、アルゴン (Ar) プラズマ照射により観測された ESR スペクトルと本質的には同一であったことから、生成しているラジカルも同じであることが明らかになった。図 2 は、PET に N₂ プラズマ照射した時と Ar プラズマ照射した時の ESR スペクトルである。両者のスペクトルは類似しているものの、Ar プラズマ照射の ESR スペクトルでは、中央のブロードなピークに対して両脇の多重線スペクトルの強度が小さい。一方、N₂ プラズマ照射の ESR スペクトルでは、Ar プラズマ照射の ESR スペクトルよりも明らかに中央のブロードなピーク強度が小さいため、両脇のピークが大きく観測されている。Ar プラズマ照射の ESR スペクトルの構成成分はすでに明らかにしており、3つの成分スペクトルから構成されている。そのうちの2成分は、ベンゼン環に水素が付加したヘキサジエニル型ラジカルに由来するものであり、残る1成分はブロードなピークを示すダンダリングボンド (未結合手、DBS) に由来するものであった。したがって、N₂ プラズマ照射をした場合には DBS の生成が抑制されることが示唆され、Ar プラズマよりも架橋反応が進行しにくいことが示唆された。

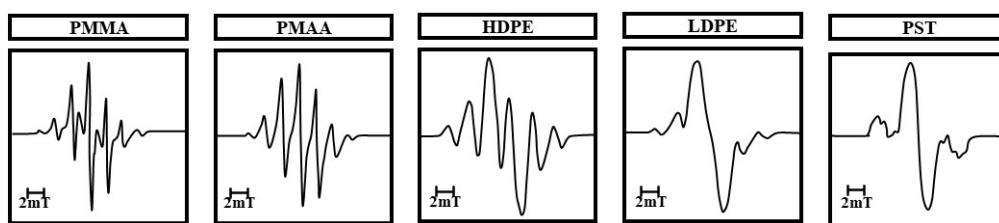


図 1 各種高分子への N₂ プラズマ照射により観測された ESR スペクトル

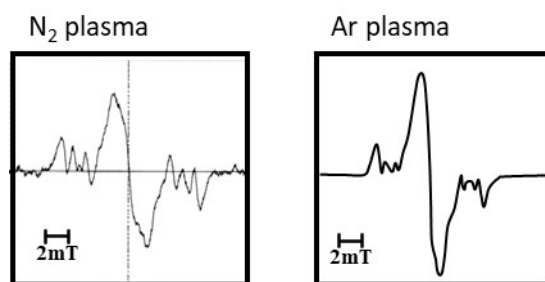


図 2 PET への N₂ プラズマ及び Ar プラズマ照射により観測された ESR スペクトル

【研究成果の公表状況】

無し

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）：近藤 隆

所属機関・部局・職名：名古屋大学・低温プラズマ科学研究センター・客員教授

連絡先 住所：〒464-8603 名古屋市千種区不老町

TEL：052-788-6075

E-Mail：tasakondo@khc.biglobe.ne.jp

共同利用・共同研究課題	和文	大気圧プラズマの細胞免疫応答への影響	
	英文	Effects of low temperature plasma on cellular immune response	
研究チーム (氏名・所属機関・部局・職名)	和文	研究代表者	近藤 隆・名古屋大学・低温プラズマ科学研究センター・客員教授
		研究分担者	古澤 之裕・富山県立大学・工学部・医薬品工学科・バイオ医薬品工学講座・准教授
		センター担当教員	田中 宏昌 教授・バイオシステム科学部門
	英文	研究代表者	Takashi Kondo・Nagoya University・cLPS・Visiting Prof.
		研究分担者	Yukihiro Furusawa・Toyama Prefectural University・Assoc. Prof.
		センター担当教員	Hiromasa Tanaka・Nagoya University・cLPS・Prof.
研究実績概要 (成果等)	<p>本研究は今まで得られた基礎的知見を基に、新たに制御性 T 細胞を標的細胞として、大気圧プラズマによる表面抗原発現への影響と機序の解明を行い、併せて照射条件の修飾効果について検討する目的で行われた。ヒト T 細胞モデルとして頻用されている Jurkat 細胞を入手し、細胞表面マーカーの発現とプラズマ照射による細胞死を検討した。その結果、材料としてヒト末梢血由来の T 細胞の必要性、および細胞死誘発に関する最適照射時間が明らかとなった。細胞死については放射線アポトーシスのモデル細胞として利用されているヒト T 細胞白血病細胞株 Molt-4 株を用いた p53 経路の関与の可能性を検討し、その関与は少ないことが判明した。併せて、大気圧プラズマによるアミノ酸に生じるラジカル中間体の検討およびと金属ナノ粒子との相互作用についても継続的に研究を実施した。</p>		
特筆事項			

大気圧プラズマの細胞免疫応答への影響

Effects of Low Temperature Plasma on Cellular Immune Response

近藤 隆・名古屋大学・低温プラズマ科学研究センター・客員教授

古澤 之裕・富山県立大学・工学部・医薬品工学科・准教授

田中宏昌・名古屋大学・低温プラズマ科学研究センター・教授

1. 研究目的

大気圧プラズマによる表面抗原発現への影響と機序の解明を行い、併せて照射条件の修飾効果について検討する。また、関連する生物応答に関わる研究および放射線との比較研究を行う。

2. 研究内容と成果

本年度は T 細胞に対する Plasma の照射条件について検討するため、ヒト T 細胞モデルとして頻用されている Jurkat 細胞を入手し、細胞表面マーカーの発現とプラズマ照射による細胞死を検討した。まず細胞表面の T 細胞に関連する CD マーカーの発現について、PE 標識した抗体を用いてフローサイトメトリーで定量した。CD3 や CD4 など、T 細胞に特徴的な抗原の発現が確認できたものの、当初標的と考えていた制御性 T 細胞の機能分子である CD25 の発現は確認できなかった (図 1)。

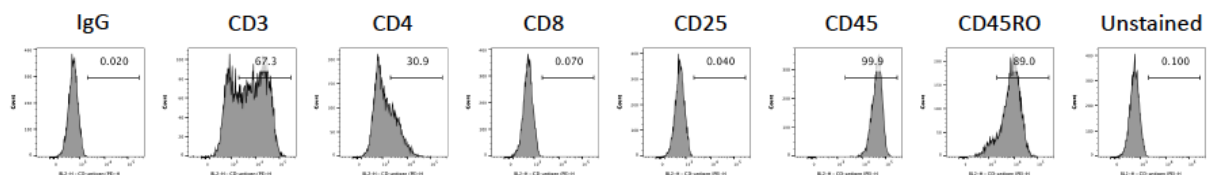


図 1 : Jurkat 細胞における細胞表面抗原のフローサイトメトリーによる発現解析

そのため、Jurkat のような培養細胞でなく、ヒト末梢血由来の T 細胞を用いる必要があると考えられる。今後は CD25 を発現した T 細胞を作成しプラズマ照射を行う予定であるが、Jurkat 細胞を用いてあらかじめ照射条件を決定しておくことで、ヒト T 細胞への照射条件の決定が円滑になるものと期待される。そこで Jurkat 細胞に対し、10~30 秒間 Plasma を照射し、24 時間後に細胞死を測定した。その結果、20 秒間の照射により、Annexin V 陽性のアポトーシス細胞がコントロールと比較して増加し、30 秒後さらに増加していた (図 2)。また、同様に SYTOXA Advanced 陽性のネクローシス細胞の増加も確認できた。以上のことから、ヒト T 細胞系にプラズマを照射し機能変化を観察する際には、30 秒未満のプラズマ照射が適切であると考えられる。

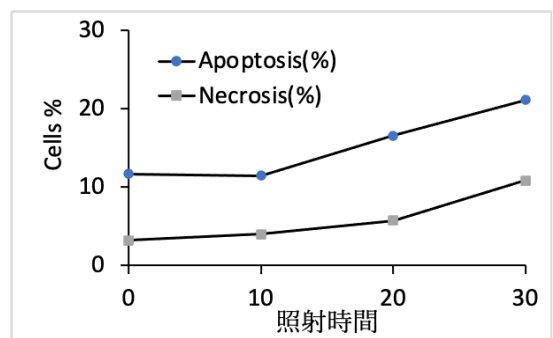


図 2 : Plasma 照射後の細胞死

次に、放射線誘発細胞死と比較するため、ヒト T 細胞白血病細胞株 Molt-4 株を用いて p53 をノックダウン株に照射したが、WT に比べて、わずかに Apoptosis が抑制される程度であり、X 線照射時に認められる差はなかった。放射線と比較してプラズマ照射は p53 経路を活性化する程度が大きくはないと思われる。

併せて、大気圧プラズマによるアミノ酸に生じるラジカル種の検討およびと金属ナノ粒子との相互作用についても継続的に研究を実施した。

【研究成果の公表状況】

<原著論文>

- 近藤 隆, 橋爪 博司, 田中 宏昌, 石川 健治, 堀 勝, 低温大気圧プラズマによるフリーラジカル生成とその生物学的意義—放射線との比較—化学工業 74(2), 120-126 (2023, 2).
- Uehara T, Kurachi M, Kondo T, Abe H, Itoh H, Sumiyoshi T, Suzuki M. Apocynin-tandospirone derivatives suppress methamphetamine-induced hyperlocomotion in rats with neonatal exposure to dizocilpine. *J Pers Med.* 27;12(3):366 (2022, 2)
- Furusawa Y, Kondo T, Tachibana K, Feril LB, Ultrasound-induced DNA damage and cellular Response: historical review, mechanisms analysis, and therapeutic implications. *Radiat Res.* 197(6):662-672 (2022, 6)
- Li P, Zhao QL, Rehman MU, Jawaid P, Cui ZG, Ahmed K, Kondo T, Saitoh JI, Noguchi K. Isofraxidin enhances hyperthermia-induced apoptosis via redox modification in acute monocytic leukemia U937 cells. *Mol Med Rep.* 27(2):41, (2023, 2)
- Tada Y, Kasai K, Makiuchi N, Igarashi N, Kani K, Takano S, Honda H, Yanagibashi T, Watanabe Y, Usui-Kawanishi F, Furusawa Y, Ichimura-Shimizu M, Tabuchi Y, Takatsu K, Tsuneyama K, Nagai Y, Roles of macrophages in advanced liver fibrosis, identified using a newly established mouse model of diet-induced non-alcoholic steatohepatitis. *Int J Mol Sci.*;23(21):13251 (2022,10)
- Hirayama J, Hattori A, Takahashi A, Furusawa Y, Tabuchi Y, Shibata M, Nagamatsu A, Yano S, Maruyama Y, Matsubara H, Sekiguchi T, Suzuki N, Physiological consequences of space flight, including abnormal bone metabolism, space radiation injury, and circadian clock dysregulation: Implications of melatonin use and regulation as a countermeasure. *J Pineal Res.* 74(1):e12834 (2023, 1)

<国際・国内会議>

- Uchiyama H, Ishikawa K, Hori M, Kondo T, Low Temperature Plasma Chemistry of Volatile and Non-Volatile Solutes in Aqueous Solutions: e.p.r. and Spin Trapping Studies. ISPlasma 2022/IC-PLANTS2022, Nagoya, 2022, 3.6-10.
- Ishikawa K, Kondo T, Tanaka H, Hori M, Toyokuni S, Mizuno M, Biological effects of the combination with low temperature plasmas and nanoparticles-platinum and gold-. GEC 2022(75th Annual Gaseous Electronics Conference), ICRP-11(11th International Conference on Reactive Plasma), Sendai, 2022, 10. 3-7.

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）：榊田 創

所属機関・部局・職名：産業技術総合研究所・電子光基礎技術研究部門・研究部門付

連絡先 住所：〒305-8568 茨城県つくば市梅園 1-1-1 つくば中央第 2

TEL：029-861-5775 E-Mail：h.sakakita@aist.go.jp

共同利用・共同研究課題	和文	低温プラズマの高密度窒素系活性種計測に関する研究		
	英文	Measurements of high-density nitrogen radicals produced by low temperature plasmas		
研究チーム (氏名・所属機関・部局・職名)	和文	研究代表者	榊田創・産総研・電子光基礎技術研究部門・研究部門付	
		研究分担者	清水鉄司・産総研・電子光基礎技術研究部門・研究グループ長、加藤進・産総研・電子光基礎技術研究部門・主任研究員、王学論・産総研・窒化物半導体先進デバイスオープンイノベーションラボラトリ・研究チーム長、熊谷直人・産総研・電子光基礎技術研究部門・主任研究員、竹田圭吾・名城大学・理工学部・准教授	
		センター担当教員	近藤博基・プラズマ科学部門	
	英文	研究代表者	H. Sakakita・AIST・Research Institute for Advanced Electronics and Photonics (RIAEP)	
		研究分担者	T. Shimizu/AIST/RIAEP/Group Leader, S. Kato/AIST/RIAEP/Senior Researcher, X-l. Wang /AIST/GaN-OIL/Team Leader, N. Kumagai/AIST/GaN-OIL/Senior Researcher, K. Takeda/Meijo University/Associate Professor	
		センター担当教員	Hiroki Kondo	
研究実績概要 (成果等)	GaN 及び InGaN 等のプロセスにおいて、成膜条件、膜品質及び窒素系活性種密度との相関関係を見出すために、名大が培ってきた真空紫外吸収分光技術を活用し、実プロセスにおける窒素原子密度等を計測することを目的としている。今年度は、プラズマ源と基板の距離を変えた場合に、成膜された物質の分析結果と窒素系活性種密度との関係を調べた。また、簡易なカイネティックモデルを用いて、窒素原子密度とガス滞留時間及び換算電界の関係について評価した。			
特筆事項	特になし。			

低温プラズマの高密度窒素系活性種計測に関する研究

Measurements of high-density nitrogen radicals produced by low temperature plasmas

榎田 創・産業技術総合研究所・電子光基礎技術研究部門・研究部門付

清水 鉄司・産業技術総合研究所・電子光基礎技術研究部門・研究グループ長

加藤 進・産業技術総合研究所・電子光基礎技術研究部門・主任研究員

王 学論・産業技術総合研究所・窒化物半導体先進デバイスオープンイノベーション
ラボラトリ・研究チーム長

熊谷 直人・産業技術総合研究所・窒化物半導体先進デバイスオープンイノベーション
ラボラトリ・主任研究員

近藤 博基・名古屋大学・低温プラズマ科学研究センター・プラズマ科学研究部門・准
教授

1. 研究目的 (12pt ゴシック体)

本共同研究は、名大が行ってきた GaN 研究、特に低温プラズマを用いた GaN 膜の成長研究を基盤としている。一方、産総研は、GaN 系の研究拠点を名古屋大学内に設置し相互機関の研究加速を図っている。また、“名大－産総研アライアンス事業”の元、研究者らは関連する共同研究を行ってきた(2016 年度～2018 年度)。現在、GaN 及び InGaN を用いた μ LED デバイス実現に向けて、実用 MOCVD プロセスの圧力環境である 0.1 気圧程度において、MOCVD 装置内にて低温プラズマを生成し、成膜実験を行っているところである。実際の成膜プロセスにおいて、生成される窒素系活性種の挙動、特に粒子密度を計測することは極めて重要である。そこで、名大が培ってきた真空紫外吸収分光の技術を活用し、実プロセスにおける窒素系活性種の挙動、特に窒素密度等を計測することを目的とする。

2. 研究内容と成果 (12pt ゴシック体)

名大赤崎記念館におけるプラズマ源搭載 MOCVD システムを用いた実プロセスにおいて、窒素系活性種密度を計測することを目指す。

2021 年度の共同研究では、予備真空システムに取り付けた真空紫外吸収分光計測システムを活用し、成膜条件と同様のプラズマ条件での窒素原子密度を計測した。更に、基板とプラズマ源の距離を変えた際の窒素原子密度計測を行った。そこで 2022 年度は、次の項目を実施した。

1) 前年度に引き続いて、基板表面での窒素原子密度値を変化させた場合に、成膜状態がどのようになるかを調べた。その結果、各種成膜条件、膜品質と窒素原子密度の関係を見出したため、論文化の準備を進めている。

2) 窒素原子の生成過程は電子エネルギー分布によって決定され、その電子エネルギー分布は換算電界(E/N)に強く依存する。しかし、プラズマ発生装置の電界強度を直接測定することは困難である。そこで本研究では、発光スペクトルから電子エネルギー分布を決定することにより、窒素原子密度を評価することを目的としている。

本年度は、ボルツマン方程式ソルバーにBolsig+コードを用いて、電子エネルギー分布を換算電界の関数として求めた。その電子エネルギー分布より反応レートを決定し、簡易なカイネティックモデルを用いて、図1に示す様に窒素原子密度、ガス滞留時間及び換算電界の関係について評価した。

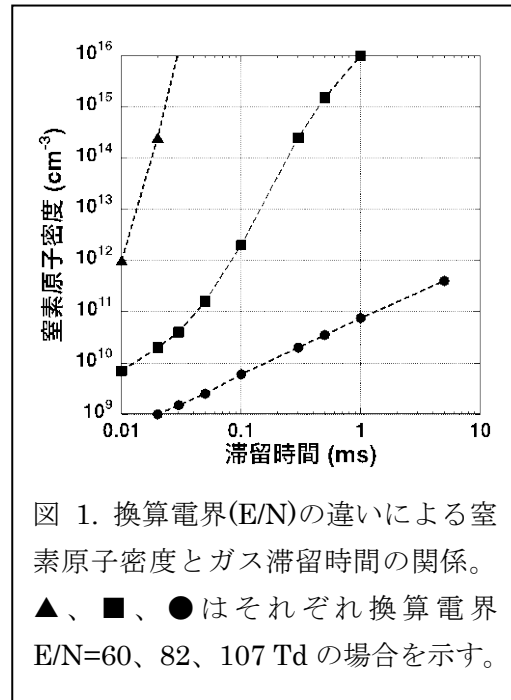


図 1. 換算電界(E/N)の違いによる窒素原子密度とガス滞留時間の関係。
▲、■、●はそれぞれ換算電界 E/N=60、82、107 Td の場合を示す。

【研究成果の公表状況】(12pt ゴシック体)

<国際・国内会議> (11pt 明朝体, Times)

加藤進, 清水鉄司, 榊田創, 準大気圧マイクロ波窒素プラズマにおける窒素原子数密度に関する理論的考察, 第 39 回 プラズマ・核融合学会年会, 富山国際会議場, 2022 年 1 月 22 日~25 日.

(注 1) 共同利用・共同研究の成果について論文を発表する場合(口頭発表を含む。)は、当該論文の謝辞(acknowledgements)の欄に本センターの共同利用・共同研究による旨を付記してください。参考として、次の例文を挙げておきます。

- This work was carried out by the joint usage / research program of center for Low-temperature Plasma Science, Nagoya University.

- 本研究は、名古屋大学低温プラズマ科学研究センターにおける共同利用・共同研究として実施された。

(注 2) 別紙様式 2-1 は A 4 サイズ 1 頁に、別紙様式 2-2 は図表等を含めて A 4 サイズ 2 頁になるようにしてください。

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）：佐々木 実

所属機関・部局・職名：豊田工業大学・大学院工学研究科・教授

連絡先 住所：〒468-8511 名古屋市天白区久方 2-12-1

TEL：052-809-1840

E-Mail：mnr-sasaki@toyota-ti.ac.jp

共同利用・共同研究課題	和文	大気圧プラズマ処理向け細胞アレイ操作 MEMS トレイ		
	英文	MEMS tray to handle cell array for atmospheric plasma irradiation		
研究チーム (氏名・所属機関・部局・職名)	和文	研究代表者	佐々木実・豊田工業大学・大学院工学研究科・教授	
		研究分担者	韓 剛 ポストドクトラル研究員 修士学生 1 名	
		センター担当教員	堤 隆嘉 助教（物質科学部門） 田中宏昌教授にも実験協力頂いた。	
	英文	研究代表者	Minoru Sasaki Professor	
		研究分担者	Gang Han Postdoctoral researcher Master course student	
		センター担当教員	Takayoshi Tsutsumi cooperated with Hiromasa Tanaka	
研究実績概要 (成果等)	MEMS トレイ Si 構造を当初考えていたが、トレイは細胞の発芽等を邪魔するリスクがあることに気付き、硬い Si 構造は最終的には細胞から離れる、個別細胞を配列して培地固定する技術に取り組んだ。成果は次の通り。(1) 144 個の花粉細胞を同時に扱える MEMS ノズルを使った配列培地固定法を見出した。培地と細胞のみのサンプルが得られ、様々な実験に利用可能である。(2) 上記サンプルにプラズマ水を滴下し、発芽率増加、花粉管伸長効果を示す統計結果を得た。液体を使わないドライな細胞トラップを実現し、リリースは 144 個の細胞を同時に処理できる点に特徴がある。プラズマバイオ実験を効率的に進める基盤技術を見出した。			
特筆事項 (受賞、産業財産権出願取得状況等)	特に無し			

大気圧プラズマ処理向け細胞アレイ操作 MEMS トレイ MEMS tray to handle cell array for atmospheric plasma irradiation

佐々木実・豊田工業大学・大学院工学研究科・教授
韓剛・豊田工業大学・大学院工学研究科・PD 研究員
堤隆嘉・名古屋大学・物質科学部門・助教

1. 研究目的

細胞などバイオサンプルにプラズマ照射し、その効果について結論を導き出すには、統計分布が得られるほど多数の細胞サンプルを、一度に処理できることが望ましい。一つの理想は、細胞を個々に孤立させつつ、多数を規則的に配列することである。本研究では、MEMS デバイスを導入し、植物単細胞の花粉を培地に配列固定する新しいドライな方法を見出すこと、更にプラズマ処理水の効果を見出すことを目的とする。

2. 研究内容と成果

図 1(a)は、ノズルアダプタ (Pisco 社, ブッシュ C, MBC08M5) 上に固定した、12x12 個の貫通穴アレイを持つ MEMS ノズルである。SEM 写真は拡大図である。サイズ 100 μm ほどのユリの花粉は、深さ 70 μm のざぐり穴に引っかかってトラップされる。

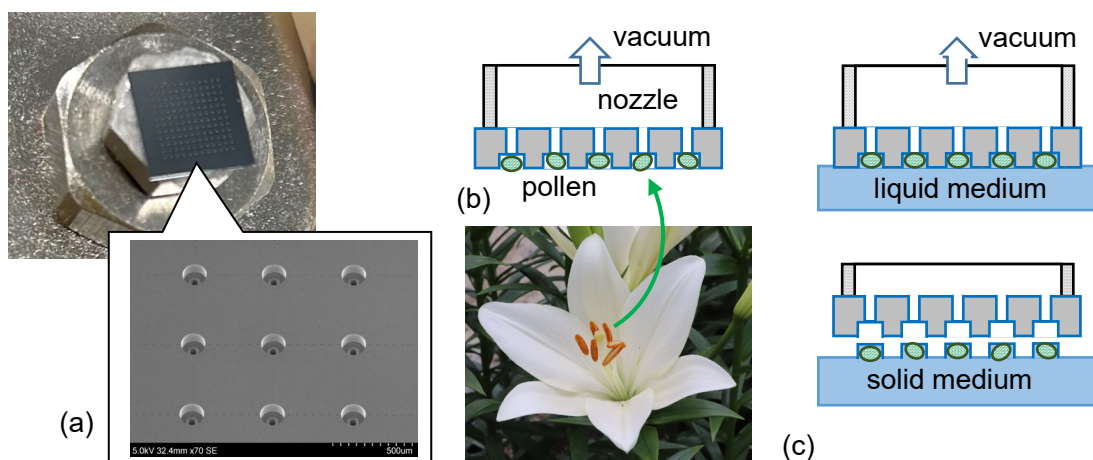


図 1 (a)MEMS ノズルを利用した(b)花粉の配列トラップと, (c)リリース方法.

花粉を配列固定する方法を様々検討し、次の方法が良いと分かった。図 1(b)のように MEMS ノズル穴から空気を吸い込みつつ、ユリの花のおしべから、ざぐり穴に花粉をトラップする。ノズル平坦部に付いた花粉は比較的に取り除くことができる。その上で、花粉を培地に移す。図 1(c)のように液状の培地をノズル穴に吸い込み、次に冷やして固めて外した。花粉入りゼリーを作るイメージである。培地はゼラチン、砂糖、純水を混ぜて用意した。ゼラチン培地が溶ける 40 $^{\circ}\text{C}$ 程度でも、細胞活性は維持される。前処理として、MEMS ノズルにフッ素コーティング (フロロサーフ社, FG-3650C-2.0) しておくと、サンプルを剥がし取り易かった。

図2は配列固定された花粉例である。花粉2つが同じ場所に入ることもある。丸い輪郭はゼラチン円柱である。吸い上げる負圧と共に、円柱は高くなる。図2(b)は約70 μm の高さがあり、ざぐり深さに対応する。図2(c)は負圧が小さい場合の3D光学像である。

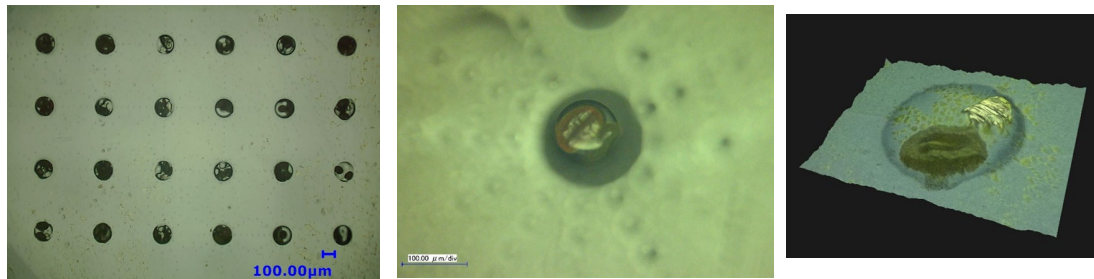


図2 ゼラチン培地に配列固定された花粉。(a)配列、(b)個別花粉、(c)3D光学像。

プラズマ処理水 (PTW; plasma-treated water) は、純水に Ar プラズマを大気中で5分間照射して作った。pHは3.5であった。PTW原液100%と、純水で10%に薄めたものを約10 μL 、花粉付き培地に置いて浸透させた。シャーレに蓋をして1日室温経過させた。一晩で花粉管が伸びる。図3(a)は花粉をおしべから直接培地に付けたもので密集しており、どこから花粉管が出ているか分かり難い。図3(b)は配列固定したものである。観察し易く、画像処理により自動計測できる可能性もある。花粉管は長いもので1mmを越えたが、通常は配列ピッチ500 μm 以下の長さであった。

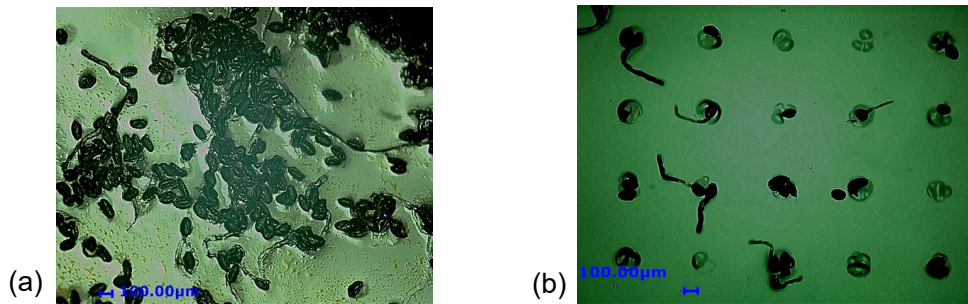


図3 (a)直接配置と(b)配列固定した花粉から花粉管が伸びた様子。

図4に花粉管長さの平均値と発芽率を示す。(a)は直接配置、(b)は配列固定した100個以上の花粉を測定して得た。実験は複数回行い、次の傾向は同じであった。純水を浸透させた場合や、何もせずに培地に置いた場合と比べ、PTWは花粉の発芽率を高めると共に、花粉管を長くする。原液よりも10%PTWの成長促進効果が高い。この効果はPTWを製作してから日数が経つと弱まる。

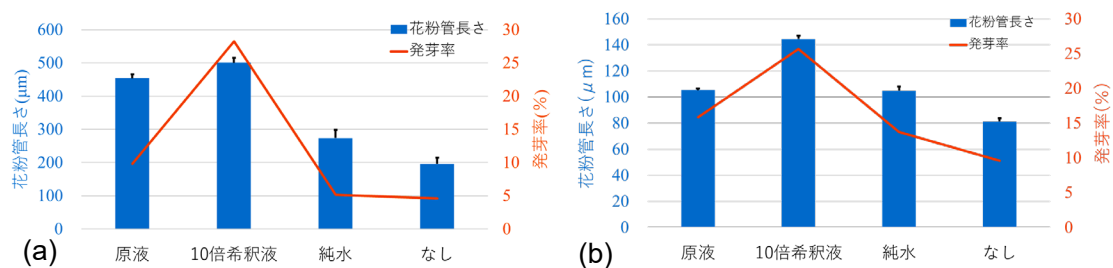


図4 PTWを与えて1日後の花粉管の特性。(a)直接配置と(b)配列固定。

【研究成果の公表状況】

<原著論文>

- ・ 投稿予定.

<国際・国内会議>

- ・ S. Sugiyama, G. Han, T. Tsutsumi, H. Tanaka, M. Sasaki, MEMS nozzle for capturing lily pollen in array and fixing on culture media, 15th International Symposium on Advanced Plasma Science and its Applications for Nitrides and Nanomaterials / 16th International Conference on Plasma-Nano Technology and Science (ISPlasma 2023), 1238 (2023.3.7, Gifu).

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）： 白谷正治

所属機関・部局・職名：九州大学・

プラズマナノ界面工学センター・センター長

連絡先 住所：〒819-0395 福岡市西区元岡 744

TEL：092-802-3734 FAX：092-802-3734

E-Mail：siratani@ed.kyushu-u.ac.jp

共同利用・共同 研究課題	和文	大気圧低温プラズマ照射溶液中の電界計測	
	英文	Electric field measurements in liquid irradiated with atmospheric plasma	
研究チーム (氏名・所属 機関・部局・職 名)	和文	研究代表者	白谷正治・九州大学・プラズマナノ界面工学センター・センター長
		研究分担者	古閑一憲・九州大学・プラズマナノ界面工学センター・教授 板垣奈穂・九州大学・プラズマナノ界面工学センター・教授 Pankaj Attri・九州大学・プラズマナノ界面工学センター・ 特任准教授 鎌滝晋礼・九州大学・プラズマナノ界面工学センター・助教 奥村賢直・九州大学・プラズマナノ界面工学センター・助教 山下尚人・九州大学・プラズマナノ界面工学センター・助教
		センター担当教員	石川 健治 教授・プラズマ科学部門
	英文	研究代表者	Masaharu Shiratani・Kyushu University・Center of Plasma Nano-interface Engineering・Director
		研究分担者	Kazunori Koga・Kyushu University・Center of Plasma Nano-interface Engineering・Professor Naho Itagaki・Kyushu University・Center of Plasma Nano-interface Engineering・Professor Pankaj Attri・Kyushu University・Center of Plasma Nano-interface Engineering・Assoc. Professor Kunihiro Kamataki・Kyushu University・Center of Plasma Nano-interface Engineering・Assis. Professor Takamasa Okumura・Kyushu University・Center of Plasma Nano-interface Engineering・Assis. Professor

			Naoto Yamashita · Kyushu University · Center of Plasma Nano-interface Engineering · Assis. Professor
		センター担当教員	Kenji Ishikawa · Professor · Plasma science division
研究実績概要 (成果等)	<p>大気圧低温沿面放電プラズマ照射溶液中の電界の様々な反応等への寄与の検討のため、ポッケルス効果を用い大気圧低温プラズマ照射溶液中の電界を定量的に実測した。放電電極からポッケルス素子を置いた接地電極までの距離が 27~57mm 地点の最大電界強度は 11.0~3.9kV/m となる一方で、液相中では距離に関わらずほぼゼロとなり、プラズマ照射溶液中の電界が遮蔽されることを明らかにした。</p>		
特筆事項	なし。		

大気圧低温プラズマ照射溶液中の電界計測

Electric field measurements in liquid irradiated with atmospheric plasma

白谷正治・九州大学・プラズマナノ界面工学センター・センター長/教授

古閑一憲・九州大学・プラズマナノ界面工学センター・教授

板垣奈穂・九州大学・プラズマナノ界面工学センター・教授

Pankaj Attri・九州大学・プラズマナノ界面工学センター・特任准教授

鎌滝晋礼・九州大学・プラズマナノ界面工学センター・助教

奥村賢直・九州大学・プラズマナノ界面工学センター・助教

山下尚人・九州大学・プラズマナノ界面工学センター・助教

石川健治・名古屋大学・低温プラズマ科学研究センター・教授

1. 研究目的 (12pt ゴシック体)

プラズマ医療・プラズマ農業などの分野では、細胞などの生体を入れた溶液に大気圧低温プラズマを照射したり、大気圧低温プラズマ照射溶液を生体に付与するなどの研究が活発に実施されている。照射溶液中に電界が存在すると電気浸透流の発生や溶液中での物理・化学・生体反応に影響が及ぶ可能性があるが、実測例はほとんど無い。本研究では、大気圧低温プラズマ照射溶液中の電界の様々な反応等への寄与解明を目的として、ポッケルス効果を用い大気圧低温プラズマ照射溶液中の電界を実測し、この寄与について検討した。

2. 研究内容と成果 (12pt ゴシック体)

使用した実験概略図を図1に示す。電極には8.7kVpp、6.8kHzの電圧を印加し、大気圧低温沿面放電プラズマを発生させた。図1(a)でプラズマ照射時に下部気相中に発生する重力方向の電界を、図1(b)でプラズマ照射液相中の電界をそれぞれ測定した。Gap長は放電電極と、接地アルミ板間の距離である。図1(b)では防水シーリングを施したポッケルス素子を高さ15mmの水中に置いた。

- ・ 図2に電界強度の測定結果の一例を示す(Gap長は気相中では27mm、液相中では20mm)。プラズマ照射時には、気相中に約10kV/m程度の電界が発生する。一方で、液相中では信号が発生しない。この結果は溶液中では電界が遮蔽されることを示す。
- ・ 図3に、プラズマ照射時の気相中、および液相中の最大電界のGap長依存性を示す。気相中の電界強度 y (kV/m)はGap長 x (mm)に対し線形的に減少し、その線形近似線は $y = -0.2x + 16.3$ ($R^2 = 0.993$) となる。これに対し、液相中ではいずれのGap長においても最大電界はほぼゼロとなることがわかる。
- ・ 本研究により、大気圧低温プラズマ照射溶液中の電界を実測し、プラズマ照射される溶液中では電界は遮蔽されることを明らかにした。

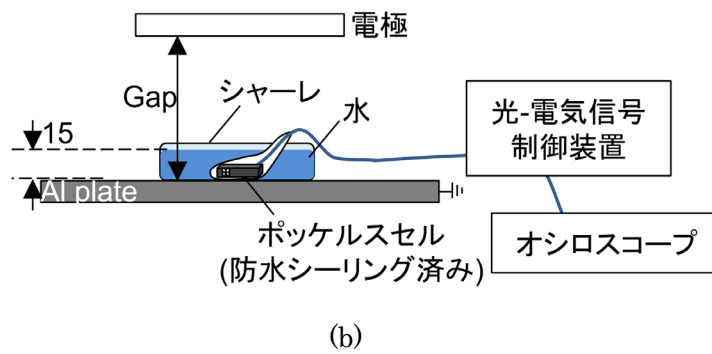
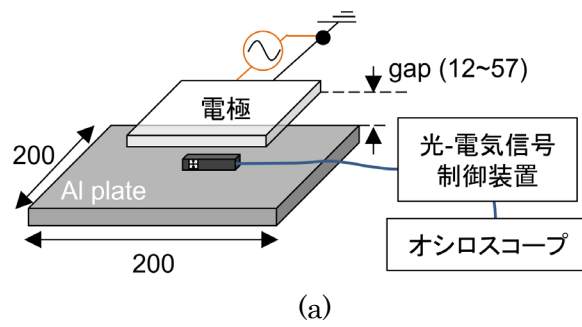


図 1

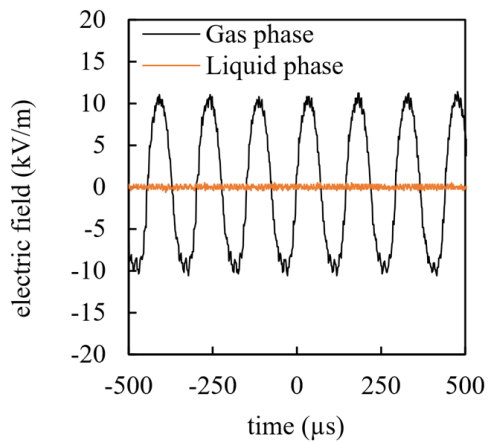


図 2

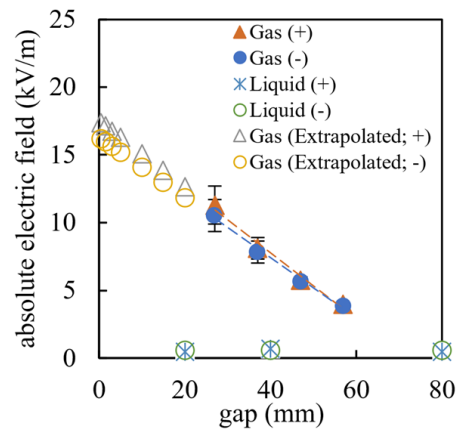


図 3

【研究成果の公表状況】 (12pt ゴシック体)

<原著論文>

- Okumura, T., Attri, P., Kamataki, K. et al. Detection of NO_3^- introduced in plasma-irradiated dry lettuce seeds using liquid chromatography-electrospray ionization quantum mass spectrometry (LC-ESI QMS). Sci Rep 12, 12525 (2022).

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）：高木 茂行

所属機関・部局・職名：東京工科大学・工学部・教授

連絡先 住所：〒〒192-0982 東京都八王子市片倉町 1404-1

TEL：042-637-2308

E-Mail：takagisgyk@stf.teu.ac.jp

共同利用・共同 研究課題	和文	SiC エッチング用プラズマの計測およびシミュレーション		
	英文	Measurement and simulation of plasma for SiC etching		
研究チーム (氏名・所属 機関・部局・職 名)	和文	研究代表者	高木 茂行・東京工科大学・工学部・教授	
		研究分担者	友部 太一・東京工科大学・工学部・大学院生 鬼塚 拓也・東京工科大学・工学部・大学院生	
		センター担当教員	関根 誠・産官学連携部門	
	英文	研究代表者	Shigeyuki Takagi・Tokyo University of Technology・ Professor	
		研究分担者	Taichi Tomobe, Takuya Onitsuka・Tokyo University of Technology Graduate School of Sustainable Engineering・Graduate Student	
		センター担当教員	Makoto Sekine・Nagoya University・Center for Low-Temperature Plasma Sciences・Project Professor	
研究実績概要 (成果等)	プラズマシミュレーションと遺伝的アルゴリズムを組合せ、エッチングプロセスに 要求されるプラズマ条件を導出する新たな最適化手法を提案した。この手法を 2 周波 励起プラズマに適用し、上部電極と下部電極の周波数適正化に適用した。約 300 種類 の周波数の組合せから、最適化された周波数条件を見出した。JJAP の特集号に論 文掲載、国際学会 ISPlasma2022、ISSM2022 で学会発表した。			
特筆事項 (受賞、産業財産 権出願取得状況 等)	International Symposium on Semiconductor Manufacturing (ISSM) 2022 で“Best Paper Award”を 受賞した。			

SiC エッチング用プラズマの計測およびシミュレーション

Measurement and simulation of plasma for SiC etching

高木 茂行・東京工科大学・工学部・教授

友部 太一, 鬼塚 拓也・東京工科大学・工学部・大学院生

関根 誠・名古屋大学・産官学連携部門部局・特任教授

1. 研究目的

半導体のエッチングプロセスにおいて、加工形状を精密にコントロールするため、2周波プラズマが使われている。2周波プラズマでは、高周波電源によりプラズマが生成され、低周波電源によりバイアスがコントロールされる。高周波の周波数はプラズマ密度を高くすること、低周波の周波数はパワー変動にともなう密度変動の低減が期待されている。こうしたプラズマの適正化は、これまでは実験で行われ、多くの時間と費用が必要であった。この研究では、プラズマシミュレーションと遺伝的アルゴリズムとを組み合わせ、エッチングプロセスに適したプラズマ条件を探索する手法を提案し、その有効性について評価する。

2. 研究内容

(1) 評価対象とシミュレーションモデル

高周波の上部電極と低周波の下部電極から構成される2周波励起プラズマ装置を評価対象とした。2周波励起プラズマ装置のプラズマ部分を切り出したシミュレーションモデルを図1に示す。プラズマは、ガス圧が19.95 Paで縦3cm、横0.5cmの平行平板内で生成される。標準条件は上部電極の印加電圧(V_{pp})が50 Vで周波数は60 MHz、下部電極の V_{pp}

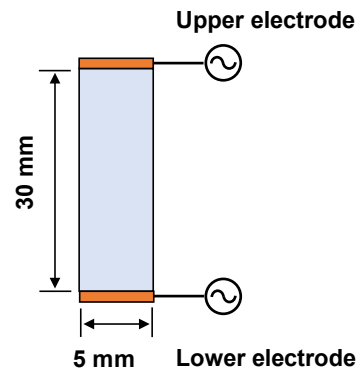


図1 シミュレーションモデル

は50 Vで周波数は2 MHzである。電子密度の計算には流体モデルのプラズマシミュレータ PHM を用いた。

この条件でのシミュレーション結果を図2に示す。電子密度と Ar^+ 密度はほぼ同じで、マイナス電荷とプラス電荷が等しくなる中性状態がシミュレーションできている。 Ar^* の密度は、電子密度より3桁高くなっている。

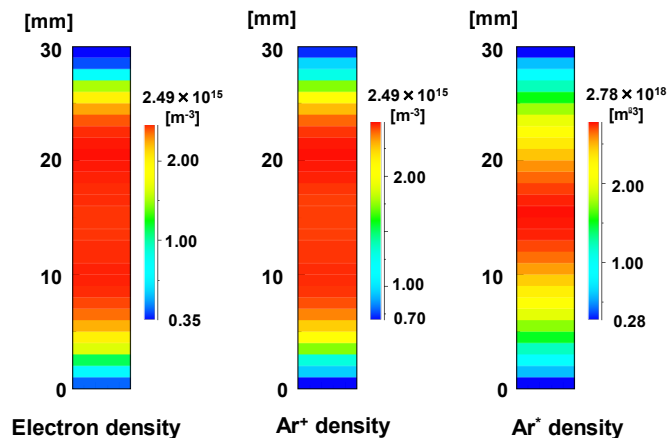


図2 シミュレーション結果

(2) 周波数依存性

我々は、下部電極の周波数を 2MHz で、上部電極の周波数を 20~300 MHz の範囲で、プラズマシミュレーションを行った。プラズマ中央部での電子密度が求められた。図 3 に計算結果を示す。電子密度は周波数とともに増加し、175 MHz で最大値となった。

次に、下部電圧の周波数を変え、電圧が 50V から 30V, 70V へと変動した場合の電子密度の変動率を計算した。この計算結果を図 4 に示す。周波数 1.0~1.5 MHz の範囲での変動は、他の周波数より変動が小さくなっている。

(3) 遺伝的アルゴリズムとプラズマシミュレーションを組合せた適正化計算

3 節では、一方の電極の周波数を一定として、他方の周波数を適正化した。次のステップとして、電子密度が高く、電圧変動が小さくなるように、上部電極と下部電極の両周波数を適正化した。図 5 に示すように、プラズマシミュレーションと最適化ソフト modeFRONTIER を組合せて、電子密度を計算した。その最適化ソフトには、収束性が高く、計算の安定性が高い遺伝的アルゴリズム NSGA-II が組み込まれている 2)。

我々は、300 種類の下部電極と上部電極の周波数の組み合わせで、電子密度の計算を行った。図 5 に計算結果を示す。横軸は上部

電極周波数、縦軸は電子密度を示している。また、電圧変動ともなう電子密度の変動はカラー表示されており、青から赤への変化に伴い密度変動が大きくなっている。この結果から、電子密度は、上部電極の周波数 175 から 210 MHz で最大となり、この領域

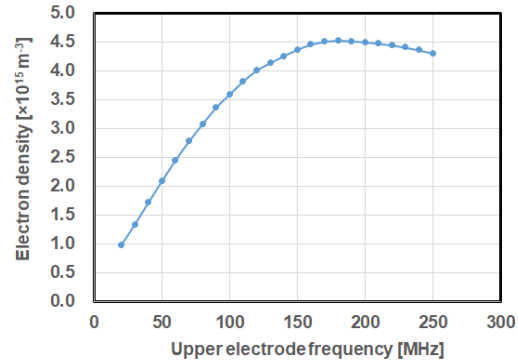


図 3 上部電極の周波数と電子密度

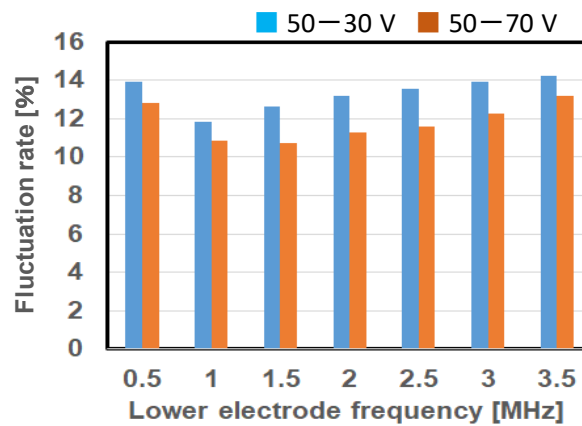


図 4 下部電極の電圧変動と密度変動

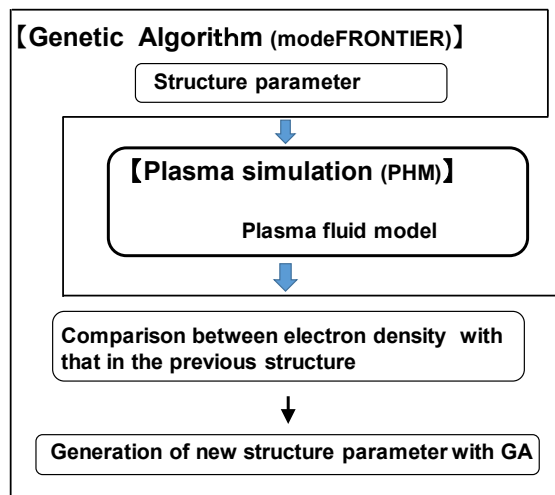


図 5 遺伝的アルゴリズムとプラズマシミュレーションを組合せた計算の流れ

での電子密度の変動は6から9%となる。上部電極の周波数が 210MHz 以上の領域では、電子密度の変動が小さくなるが、電子密度は低下する。これらの結果は、上部電極の周波数が 175~210 MHz、下部電極の周波数 0.5~4MHz が最適化条件であることを示している。

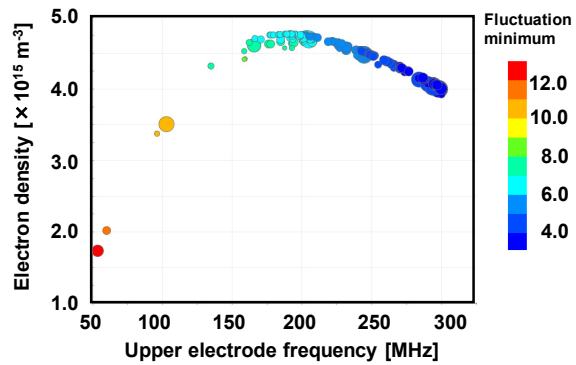


図6 上部電極の周波数と電子密度、電子密度の変動率

3. 成果

① 遺伝的アルゴリズムを組合せたプロセス適正化手法の確立

プラズマシミュレーションと遺伝的アルゴリズムを組合せ、エッチングプロセスに適したプラズマ装置の適正化条件を導出する手法を提案し、2周波プラズマの上部電極と下部電極の適正化に適用・評価した。

② International Symposium on Semiconductor Manufacturing (ISSM) 2022 で “Best Paper Award” を受賞

①の手法について、2022年12月に開催された国際学会 International Symposium on Semiconductor Manufacturing (ISSM) 2022 で発表し、“Best Paper Award” を受賞した。

③ プロセス開発にプロセスシミュレーションを展開する体制の確立

プロセス側からの要求をプラズマシミュレーションに反映させ、プラズマシミュレーションを活用してプロセスを開発する体制を確立した。

【研究成果の公表状況】

<原著論文>

- ・ Shigeyuki Takagi, Suguru Kawamura, Makoto Sekine, Estimations of secondary electron emission coefficients of Si, SiO₂, and polyimide electrodes in dual-frequency capacitively coupled discharge, Jpn. J. Appl. Phys. **62**, SA1009, 2023.

<国際・国内会議>

- ・ Shigeyuki Takagi, Tatsuhiro Nakaegawa, Shih-Nan Hsiao, and Makoto Sekine, Optimization of RF Frequencies in Dual-frequency Capacitively Coupled Plasma Apparatus Using Genetic Algorithm (GA) and Plasma

- Simulation, International Symposium on Semiconductor Manufacturing (ISSM) 2022, P0-28, KFC Hall, Ryogoku, Tokyo, 12th December, 2022
- Shigeyuki Takagi, Dong Hao, Shih-Nan Hsiao, and Makoto Sekine, “Comparison of uniformity between etching rate and calculated plasma parameter in dual-frequency capacitively coupled plasma” , ISPlasma2023, Nagoya University, March 6th, 2023.

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）：竹内 和歌奈

所属機関・部局・職名：愛知工業大学 工学部 准教授

連絡先 住所：〒470-0392 愛知県 豊田市 八草町 八千草 1247

TEL：0565-48-8121

E-Mail：wtakeuchi@aitech.ac.jp

共同利用・共同研究課題	和文	SiC/CNW 足場基材の表面形態および SiC が細胞生育に与える影響の解明		
	英文	Effects of surface morphology and SiC coating on cell growth of SiC/CNW cell scaffolds		
研究チーム (氏名・所属機関・部局・職名)	和文	研究代表者	竹内和歌奈 愛知工業大学 工学部 准教授	
		研究分担者	(株) ジャパン・アドバンスト・ケミカルズ (JAC) 安原重雄(取締役) 財津優、名古屋大学 鳴瀧彩絵 教授 愛知工業大学 M2 小野浩毅	
		センター担当教員	バイオシステム科学部門 堀 勝	
	英文	研究代表者	Wakana Takeuchi, Aichi Institute of Technology	
		研究分担者	S. Yasuhara and Y. Zaitso, Japan Advanced Chemicals Ltd., A. Narutaki, Nagoya Univ., K. Ono, Aichi Institute of Technology	
		センター担当教員	M. Hori	
研究実績概要 (成果等)	昨年度の成果として、CNW 上に SiC をコーティングし(SiC/CNW)、CNW 構造のエッジ幅を増加させることで骨芽細胞の増殖が促進された。今年度は CNW のエッジ幅と細胞挙動の関係を調査するため、骨芽細胞の形態、増殖、石灰化を評価した。CNW 構造のエッジ面積が全体の約 40%まで細胞増殖が急激に増加し、それ以降は商用培養皿と同等の増殖率で飽和した。また、石灰化はエッジ幅によらず抑制された。			
特筆事項 (受賞、産業財産権出願取得状況等)	特になし			

SiC/CNW 足場基材の表面形態および SiC が 細胞生育に与える影響の解明

Effects of surface morphology and SiC coating on cell growth of SiC/CNW cell scaffolds

竹内 和歌奈 愛知工業大学 工学部 准教授
安原 重雄 (株) ジャパン・アドバンスト・ケミカルズ (JAC)
取締役 技術開発本部長
財津 優 (株) ジャパン・アドバンスト・ケミカルズ (JAC)
技術開発本部 開発部
鳴瀧彩絵 名古屋大学 大学院工学研究科 教授
小野 浩毅 愛知工業大学 工学研究科 M2

1. 研究目的

本研究では再生医療の発展に重要な技術である細胞挙動制御可能な細胞培養足場作成に向けた CNW 構造足場の表面形態と細胞増殖、分化を評価し、CNW の表面形態と細胞挙動の関係の検証を目的とする。前年度では、CNW への SiC コーティングによる CNW エッジの厚みと細胞増殖の評価を行い、エッジ幅を 8 nm (CNW のエッジ幅) から 43 nm まで系統的に変化させたところエッジ幅が増えるにつれて細胞増殖が促進された。この結果から今年度はエッジ幅を 43 nm からウォール間が埋まるまで SiC をコーティングしたものを用意し、昨年よりさらに詳細に CNW の表面形態と細胞挙動を調べるため、細胞増殖率だけではなく、細胞形態、分化の評価を行った。

2. 研究内容と成果

CNW は Si 基板($\leq 0.1 \Omega\text{cm}$)にラジカル注入型プラズマ化学気相成長法を用いて原料ガスにメタンと水素、基板温度 650°C で成膜した。その後コールドウォール型 CVD 装置を用いて、ヒーター温度 700°C で CNW 上に SiC 原料ガスのビニルシランを流して SiC をコーティングした。ビニルシランを用いてパルス供給ホットウォール CVD 法により成膜した。SiC 成膜前後の走査型電子顕微鏡(SEM)像を図 1 に示す。コーティングによってエッジ幅が増加し、サイクル数を増やしていくと最終的にウォール間が埋まったことがわかる。この SiC コート CNW(SiC/CNW)上で骨芽細胞を培養し、細胞挙動を評価した。図 2 に SiC/CNW 上での細胞増殖率とエッジ面積比の関係を示す。細胞増殖は MTS 試薬を用いて比色定量分析を行った。エッジ面積比は SEM 像からエッジ部分のピクセル数と全体のピクセル数の比から算出した。ここで、細胞増殖率は商用培養皿 (ポリスチレン) 上での細胞増殖率を 100%として示した。この結果から細胞増殖率はエッジ面積比が約 40%まで急激に増加し、商用培養皿と同等の細胞増殖率となり、それ以降の面積比では飽和した。

分化の評価方法は骨芽細胞の分化の指標である細胞外カルシウムによる石灰化を測定した。細胞外カルシウムをアリザリンレッド染色し、その後溶出して比色定量分析を

行った。石灰化率とエッジ面積比の関係を図3に示す。この結果から細胞の石灰化は商用培養皿と比較して抑制されていることがわかる。

これらの結果から CNW のエッジ幅増加によって細胞の広がりが大きくなり、骨分化を抑えたままエッジ面積比が約 40%まで細胞増殖が商用培養皿と同等となることが分かった。

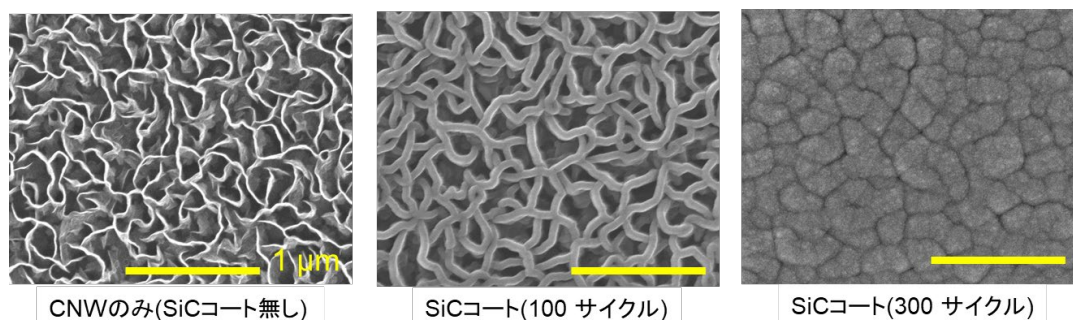


図1 CNW上にSiCをコーティングした時の表面SEM像

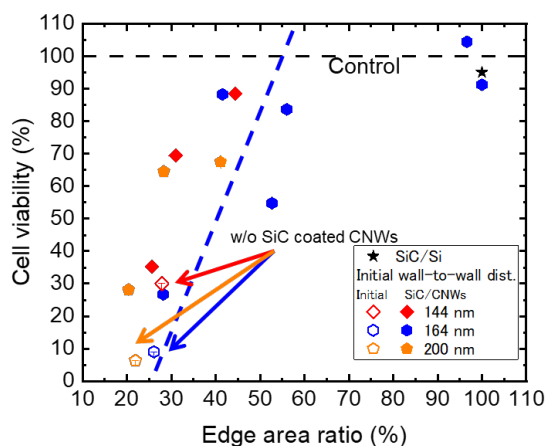


図2 エッジ面積比と細胞増殖の関係

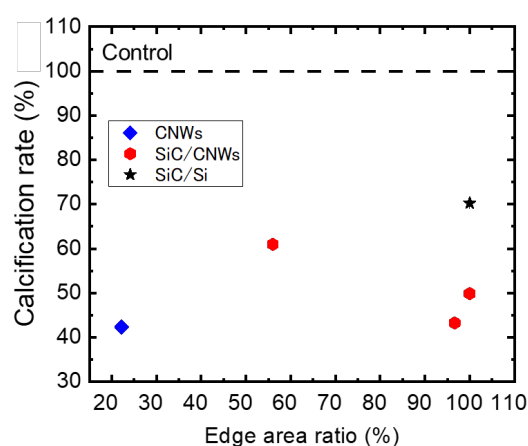


図3 エッジ面積比と石灰化率の関係

【研究成果の公表状況】

<原著論文>

Koki Ono, Takashi Koide, Kenji Ishikawa, Hiromasa Tanaka, Hiroki Kondo, Ayae Sugawara-Narutaki, Yong Jin, Shigeo Yasuhara, Masaru Hori, and Wakana Takeuchi, Biocompatibility of conformal silicon carbide on carbon nanowall scaffolds., Japanese Journal of Applied Physics **62**, SA1017 (2023).

<国際・国内会議>

Koki Ono, Takashi Koide, Yong Jin, Yuuki Tsutiizu, Takuhiro Hasegawa, Shigeo Yasuhara and Wakana Takeuchi, Growth of SiC Thin Film on Various Metal Substrates by CVD Using Vinylsilane, Solid State Devices and Materials, (Makuhari, Japan), 2022.9.28, K-6-04. (Oral)

他2件

2022年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）：田中康規

所属機関・部局・職名：金沢大学・電子情報通信学系・教授

連絡先 住所：〒920-1192 石川県金沢市角間町

TEL：076-234-4846

E-Mail：tanaka@ec.t.kanazawa-u.ac.jp

共同利用・共同 研究課題	和文	熱プラズマにより大量生成したナノ粒子の表面分析	
	英文	Surface Analysis of Nanoparticles Synthesized by Thermal Plasmas	
研究チーム (氏名・所属 機関・部局・職 名)	和文	研究代表者	田中康規・金沢大学・電子情報通信学系・教授
		研究分担者	中野裕介・金沢大学・電子情報通信学系・助教 石島達夫・金沢大学・電子情報通信学系・教授
		センター担当教員	兒玉直人・プラズマ科学部門
	英文	研究代表者	Yasunori Tanaka
		研究分担者	Yusuke Nakano, Tatsuo Ishijima
		センター担当教員	Naoto Kodama
研究実績概要 (成果等)	本研究では、トーチに二つのコイルで駆動する「タンデム型変調誘導熱プラズマ装置 (Tandem-MITP)」を開発し、これに原料間歇導入(TCFF)を組み合わせた「Tandem-MITP + TCFF 法」を用いて、機能性ナノ粒子を大量生成できるようにした。本年度はタンデム型変調誘導熱プラズマにおける変調条件を対象とした。生成したナノ粒子の表面分析を走査型トンネル顕微鏡などで行い、ナノ粒子生成実験条件と生成されたナノ粒子表面状態の関係を明らかにした。		
特筆事項 (受賞、産業財産 権出願取得状況 等)	[1] 長瀬, 古川, 田中, 他, 原料間歇導入を伴うタンデム型 Ar+H ₂ 変調熱プラズマで生成した Si ナノ材料特性評価, 2022年電気学会全国大会 WEB8-A4, 1-094, 2022		

熱プラズマにより大量生成したナノ粒子の表面分析 Surface Analysis of Nanoparticles Synthesized by Thermal Plasmas

田中康規・金沢大学・電子情報通信学系・教授
石島達夫・金沢大学・電子情報通信学系・教授
中野裕介・金沢大学・電子情報通信学系・助教
兒玉直人・名古屋大学・プラズマ科学部門・助教

1. 研究目的

本研究グループは、ナノ粒子を大量に生成する手法として、これまでに変調型誘導熱プラズマ(MITP)とそれに原料を同期間歇する手法(TCFF), すなわち「MITP+TCFF 法」を開発してきた。本法を用いれば原料の蒸発と蒸気の効率的冷却による核生成の両方を効率的に行うことができる。更に MITP の安定性を大幅に向上させた「タンデム型変調誘導熱プラズマ(タンデム MITP)」を開発した。これは一つのトーチに二つの独立したコイルを取り付けて、熱プラズマの直列構造を生成する。これによりさらに時空間で変動する熱プラズマ場を実現できる。このタンデム MITP を用いたナノ粒子の大量生成を検討している。大量生成したナノ粒子の表面分析を走査型トンネル顕微鏡などで行い、ナノ粒子生成実験条件と生成されたナノ粒子表面状態の関係を明らかにする。

2. 研究内容と成果

開発している「変調誘導熱プラズマ(MITP)」は、高いガス温度、高い化学反応性を時空間に制御できるという特徴を有し、さらに無電極放電のため汚染物質混入が非常に少ないという特徴を持つ。このことから、筆者らは MITP を用いたナノ粒子 (NP) 大量生成法の開発を行っている。しかし M-ITP は外部からの擾乱に対し比較的容易に不安定となる。そのため例えばナノ粒子生成プロセス時にトーチ内に大量の原料粉体を投入すると、条件によっては熱プラズマが消滅する場合があります。材料の大量処理時における MITP の安定維持が課題として挙げられる。この課題に対し、筆者らは「タンデム型 MITP 装置」を開発している[1]。タンデム型 MITP では、設置された2つのコイルに流す高周波電流を独立に変調制御することで、安定的かつ効率的なプロセスが可能となる。本報告では、タンデム型 MITP を用い、例として Fe³⁺-doped TiO₂ ナノ粒子を対象として、変調条件を変更して生成したナノ粒子の粒径および特性の評価を行った。

実験条件を以下のように設定した。対象としたのは Fe³⁺-doped TiO₂ ナノ粒子生成である。Fe³⁺-doped TiO₂ ナノ粒子は、紫外光から可視光までに対して光触媒作用を示し、その酸化作用を利用して有害物質の分解に用いられる。下段コイル電流変調における DF 条件がナノ粒子生成へ与える影響の検討を行った。上段コイル・下段コイルとして巻数をそれぞれ4巻、8巻のものを用いた。チャンバ内圧力を 300 Torr とした。シー

スガスとして Ar 90 slpm + O₂ 10 slpm を、キャリアガスとして O₂ 4 slpm を供給した。原料は、平均粒径 27 μm (最大 45 μm) の Ti と Fe 混合粉体であり、その混合比を 5wt%Fe+95wt%Ti とした。原料粉体投入用の水冷チューブの先端位置は、下段コイル 4 巻目とした。今回行った実験は、変調周期を 15 ms とし下段コイル電流の変調条件として DF を変更し、下段コイル電流の DF を 100%DF, 80%, 73%, 66% の 4 パターンの変調条件で行った。熱プラズマへの投入電力は、プラズマの安定性および電源仕様より、上段コイル 15kW, 下段コイル 8 kW とし、下段コイルのみ電流変調を行った。上段コイル回路と下段コイル回路間で共振が生じないように、上段コイル電流は 475 kHz, 下段コイル電流は 305 kHz と運転周波数をそれぞれ設定した。以上の条件で、Fe³⁺-doped TiO₂ ナノ粒子生成実験を行い、FE-SEM による生成ナノ粒子の分析を行った。生成粒子は、チャンバ下流のフィルタから回収した。

Fig.1 に、生成粒子の FE-SEM 像および粒径度数分布を示す。粒径度数分布には、平均粒径、中央値、標準偏差 および 100 nm 以下の割合を示した。その結果、DF が 100% において平均粒径は 99.4 nm, 80%において平均粒径 61.6 nm, 73%において平均粒径 55.1 nm, 66%において平均粒径 42.1 nm であった。同図 から DF が 100% の場合、粒径が 100 nm を超える粒子が多く確認できる。これは熱プラズマによる原料蒸発蒸気に対して冷却が十分になされずに粒子が成長したためと考えられる。それに対して、変調をした条件では、熱プラズマの Off-time が増加し、蒸発蒸気の冷却が十分になされたため、粒径成長が抑制されたと考えられる。また、DF が小さくなることで平均粒径がより小さくなり、粒子の分布も小粒径方向にシフトすることが読み取れる。これは、DF が小さくなることで熱プラズマの Off-time が長くなり、蒸発蒸気がより効果的に冷却されたためだと考えられる。以上から、下段コイル電流変調の DF の減少により、原料蒸発蒸気の冷却効果向上が見込め、粒子成長の抑制が可能である。

【研究成果の公表状況】

[1] 長瀬, 古川, 田中, 他, 原料間歇導入を伴うタンデム型 Ar+H₂ 変調熱プラズマで生成した Si ナノ材料特性評価, 2022 年電気学会全国大会 WEB8-A4, 1-094, 2022

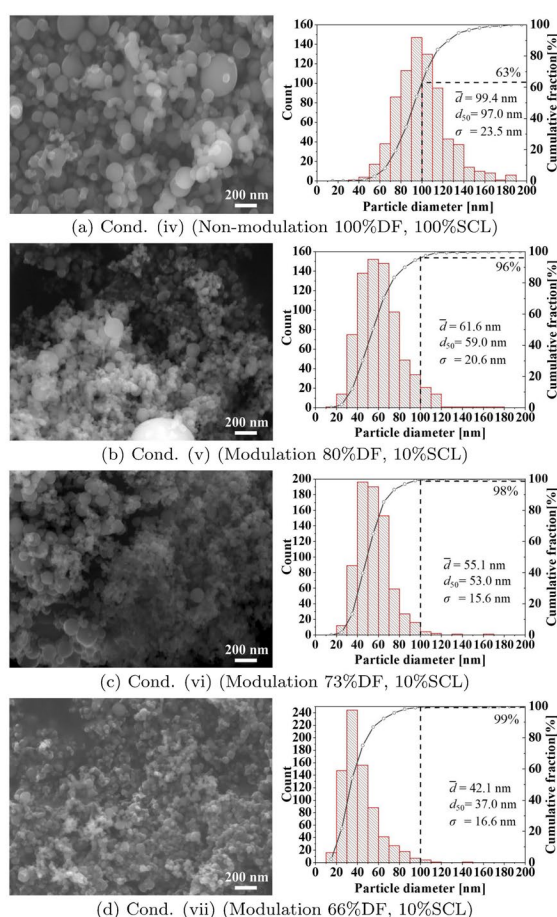


Fig.1 生成したナノ粒子の FE-SEM 像および粒径度数分布

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者 (研究代表者) : 田中 学

所属機関・部局・職名 : 九州大学・工学研究院・准教授

連絡先 住所 : 〒819-0395 福岡県福岡市西区元岡 7 4 4

TEL : 092-802-2755 FAX : 092-802-2785

E-Mail : mtanaka@chem-eng.kyushu-u.ac.jp

共同利用・共同 研究課題	和文	アーク放電法によるナノ炭素材料の表面分析に基づく生成機構解明	
	英文	Surface analysis of nano-carbon materials fabricated by arc discharge	
研究チーム (氏名・所属 機関・部局・職 名)	和文	研究代表者	田中学・九州大学・工学研究院・准教授
		研究分担者	
		センター担当教員	兒玉直人・プラズマ科学部門
	英文	研究代表者	Manabu Tanaka
		研究分担者	
		センター担当教員	Naoto Kodama
研究実績概要 (成果等)	<p>アーク放電を用いたナノ炭素材料の合成は幅広く研究されており、様々なナノ炭素材料の開発が進行している。一方で、その生成機構に関する理解は、未だ充分でない。そこで本研究では、特定波長に注目した高速度イメージング技術を用い、アーク放電を用いたナノ炭素材料の生成過程における基礎現象を解明することを目的とする。</p> <p>本年度の研究では、アーク放電内外におけるラジカルの時空間分布の可視化のために、特定波長の発光スペクトルの二次元分布を時間分解測定可能な測定系構築を試みた。その結果、$30 \times 40 \text{ mm}^2$の空間領域を波長分解能 3 nm で観測可能な二次元分光観測系を構築することに成功した。</p>		
特筆事項 (受賞、産業財産 権出願取得状況 等)	なし		

アーク放電法によるナノ炭素材料の表面分析に基づく 生成機構の解明

Surface analysis of nano-carbon materials fabricated by arc discharge

田中学・九州大学・工学研究院・准教授

1. 研究目的

アーク放電を用いたナノ炭素材料の合成は幅広く研究されており、様々な機能性ナノ炭素材料の開発が進行している。一方で、電力用開閉器などの内部でアーク放電が生じた際には、絶縁保護の観点から炭素材料が無生成であることが求められる。

しかしながら、アーク放電において特定のナノ炭素材料を選択的に生成する、もしくはナノ炭素材料の生成を効果的に抑制するための機構に対する理解は未だ充分ではない。そこで本研究では、特定波長のみ注目した高速度イメージング技術に注目し、アーク放電を用いたナノ炭素材料の生成過程における基礎現象を解明することを目的とする。特に、アーク中およびその周囲におけるラジカルの分布を可視化することで、ナノ炭素材料の生成機構の解明に寄与する知見を得る。

本年度の研究では、アーク放電内外におけるラジカルの時空間分布の可視化のために、特定波長の発光スペクトルの二次元分布を時間分解測定可能な測定系を構築した。

2. 研究内容と成果

本年度の研究では、分光器とカメラレンズを組み合わせることで、図 1 に示す光学系を作成した。この光学系は、画像分光器(Jobin YVon HR300)、対物レンズ(Nikon ED, AF Nikkor 80-200 mm, f2.8)、および準平行光化用レンズ(Nikon, Nikkor 50 mm, f1.2)からなる。対物レンズによって集光された光を対物レンズと平行光化用レンズの間で一旦結像させ、その後平行光化用レンズに入射させる。これにより、準平行光化した光を画像分光器に入射している。

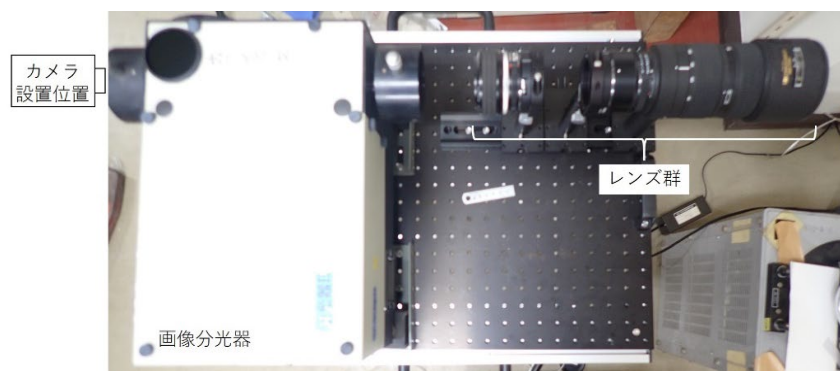


図 1 構築したラジカル分布観測系

画像分光器内に入射された準平行光は、分光器内の入りロスリット側のコリメータレンズによって集光され、回折格子近傍において結像する。これにより、結像された光学像を波長分解する。波長分解された光学像は、分光器の出口ロスリット側のコリメータレンズによって、再度、平行光化する。

この波長分解された平行光のうち、特定の波長のみを出口ロスリットから取り出し、出口ロスリット近傍に設けたカメラレンズに入射することで、カメラの撮影素子上で像を再結像する。これにより、任意の波長の二次元像を観測することが可能である。このとき、空間分解能や時間分解能は、出口ロスリット側に設けるカメラの性能に依存する。

構築した二次元分光観測系の撮影テストとして、水銀(Hg)ランプに対する二次元分光観測を行った結果を、図2に示している。カメラは、Olympus TG-6を使用している。

同図からわかるように、Hg Iに対する発光の二次元分布計測が行えている。また、Hg Iスペクトルが存在しない波長 $\lambda=542\text{ nm}$ では発光像が無く、特定の波長の光のみを二次元的に捉えられていることがわかる。このときの観測可能範囲は、 $30\times 40\text{ mm}^2$ であり、アーク放電の空間観測に十分な観測範囲を有する。

実際のアーク放電の実験では、観測用のカメラとして高速度ビデオカメラ(Phantom Veo 710, Max $1280\times 800\text{ pixel}$)を用いて、高時間分解能かつ高空間分解能な観測を行う予定である。

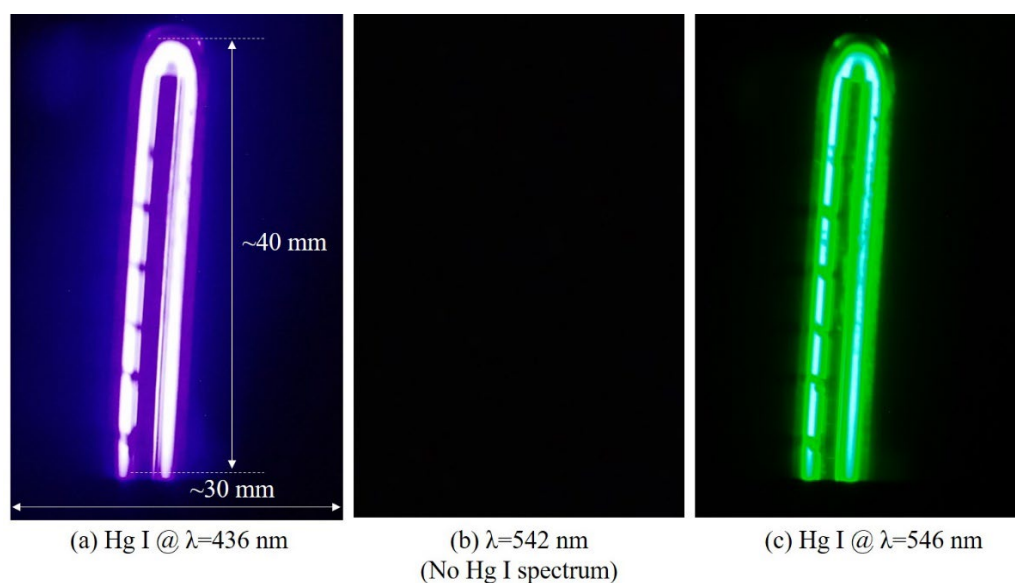


図2 Hg ランプに対する波長分解観測テストの結果

【研究成果の公表状況】

<原著論文> 該当なし。

<国際・国内会議> 該当なし。

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者 (研究代表者) : 寺嶋 和夫

所属機関・部局・職名 : 東京大学・新領域創成科学研究科・教授

連絡先 住所 : 〒277-8561 柏市柏の葉 5-1-5-504 基盤棟 5 階 5A1 室

TEL : 04-7136-3797

E-Mail : kazuo@plasma.k.u-tokyo.ac.jp

共同利用・共同研究課題	和文	液中プラズマを用いた次世代放熱シートを実現する粒子表面設計		
	英文	Surface design of particles for next-generation thermal conductive sheets using plasmas in solution		
研究チーム (氏名・所属機関・部局・職名)	和文	研究代表者	寺嶋和夫・東京大学・新領域創成科学研究科・教授	
		研究分担者	伊藤剛仁・東京大学・新領域創成科学研究科・准教授 宗岡均・東京大学・新領域創成科学研究科・助教 井上健一・東京大学・新領域創成科学研究科・大学院生 高木直人・東京大学・新領域創成科学研究科・大学院生 清水禎樹・産業技術総合研究所・先端オペランド計測技術 オープンイノベーションラボラトリ・加工プロセス計測チーム	
		センター担当教員	石川健治・教授	
	英文	研究代表者	Kazuo Terashima・The University of Tokyo・Graduate School of Frontier Sciences・Professor	
		研究分担者	Tsuyohito Ito・Hitoshi Muneoka・Kenichi Inoue・Naoto Takagi・Yoshiki Shimizu	
		センター担当教員	Kenji Ishikawa・Professor	
研究実績概要 (成果等)	高熱伝導性無機フィラーとして用いられる六方晶窒化ホウ素(hBN)に対し液中プラズマ処理を行い、液中プラズマによるダングリングボンド形成とそれに続く大気環境下でのOH基修飾を電子スピン共鳴(ESR)とX線光電子分光(XPS)を用いて分析した。その結果、hBN表面に形成したダングリングボンドに緩やかにOH基が修飾する過程が観測でき、液中プラズマ表面改質のメカニズムの一端を明らかにできた。			
特筆事項(受賞、産業財産権出願取得状況等)	特になし			

液中プラズマを用いた次世代放熱シートを実現する粒子表面設計

Surface design of particles for next-generation thermal conductive sheets
using plasmas in solution

寺嶋和夫・東京大学・新領域創成科学研究科・教授
伊藤剛仁・東京大学・新領域創成科学研究科・准教授
宗岡均・東京大学・新領域創成科学研究科・助教
井上健一・東京大学・新領域創成科学研究科・大学院生
高木直人・東京大学・新領域創成科学研究科・大学院生
清水禎樹・産業技術総合研究所・先端オペランド計術技
術オープンイノベーションラボラトリ

1. 研究目的

電子機器の高密度化・薄型化が進み、特にフレキシブルデバイスの開発が行われる中、より熱伝導性が高く柔軟な放熱シートの要求が高まっている。我々は柔軟なスライドラッシングポリマー中に熱伝導性無機粒子を分散させることで従来にない低ヤング率(~10 MPa)を備えた熱伝導性複合材料を開発してきたが、その際の要素技術となるのが無機粒子のプラズマ表面改質である。特に液中プラズマ処理された粒子表面は極性基で修飾され、分散性が向上するとともにポリマー相との強固な界面相互作用を生み出し、効率的な熱伝導や靱性の向上が期待される。本研究では電子スピン共鳴等を用いた結合状態の分析から、プラズマ改質表面とそれがもたらすポリマー間相互作用の解明を目指す。

2. 研究内容と成果

我々はこれまでの共同利用・共同研究において、高熱伝導性無機粒子である六方晶窒化ホウ素(hexagonal boron nitride; hBN)の液中プラズマ表面改質について分析を進めてきた。これまでの成果から、液中プラズマが hBN 表面に官能基を修飾する表面改質メカニズムについては、プラズマによって形成したダングリングボンドが酸化されることで OH 基等が修飾されることが示唆されてきた。特に液中プラズマ処理によるダングリングボンド形成は電子スピン共鳴(Electron spin resonance; ESR)を用いて確認することができたが、しかしその後の官能基修飾の過程は観測されていなかった。そこで本年度はこれまで用いていた hBN 粒子(Sigma-Aldrich, 比表面積 37 m²/g)よりも比表面積の大きい hBN 粒子(Maruka, AP-170S, 比表面積 101 m²/g)などに液中プラズマ処理を行い、大気環境下での緩やかな酸化により生じるダングリングボンドへの OH 基修飾を ESR や X 線光電子分光(X-ray photoelectron spectroscopy; XPS)から分析した。

ESR の結果より、液中プラズマ処理によって hBN のマイクロ波共鳴吸収が増加することが確かめられ、これは Three-boron centers(TBC)と呼ばれる hBN のダングリングボンドに由来するスペクトルと同定された。さらに大気中での経過日数に応じて、形成した TBC 由来のスペクトルが最大 500 日の長期間をかけて減少していく様子も ESR より

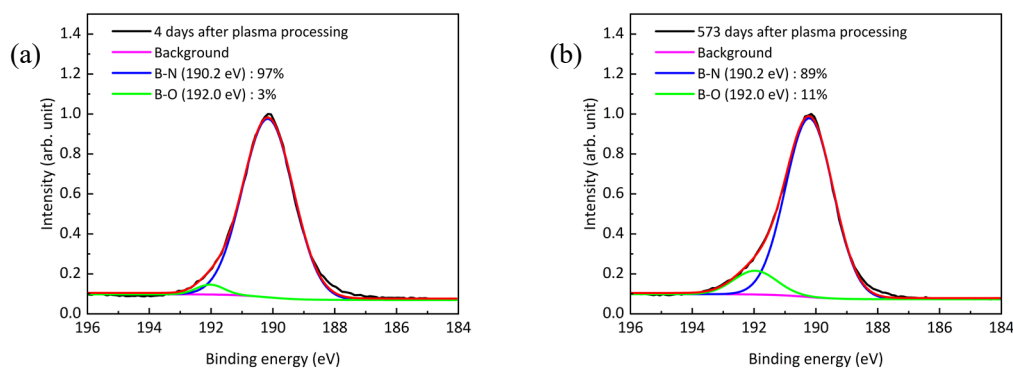


図. XPS より測定した液中プラズマ処理 hBN(AP-170S)の B 1s ピーク

(a) 液中プラズマ処理から大気環境下 4 日後での測定結果

(b) 液中プラズマ処理から大気環境下 573 日後での測定結果

観測された。これはこれまで用いていた hBN 粒子(Sigma-Aldrich)では見られなかった緩やかな変化であり、その相違を生む原因は今後の研究対象であるものの、未解明であったダングリングボンドへの修飾過程の観測を可能にしている。さらに図に示す XPS のスペクトルからは、日数経過によって液中プラズマ処理 hBN に B-O 結合由来のピークが増加していることも確かめられ、B-OH 基の形成が示された。以上の結果より、液中プラズマによって形成したダングリングボンドに緩やかに OH 基が修飾する過程を観測でき、液中プラズマ表面改質のメカニズムの一端を明らかにできた。今回得られた成果は液中プラズマ表面改質による OH 基修飾を示しており、それによって hBN フィラーの分散性向上だけでなくポリマーとの結合形成が可能であることを示唆している。実際、本研究で OH 基修飾が確かめられた hBN を用いた複合材料ではヤング率の低下や伸び率の向上といった柔軟性・靱性の改善が確かめられており、本成果が今後さらなる高機能複合材料の開発を加速すると期待される。

【研究成果の公表状況】

<原著論文>

- Kenichi Inoue, Noritaka Sakakibara, Taku Goto, Tsuyohito Ito, Yoshiki Shimizu, Yukiya Hakuta, Kenji Ishikawa, Masaru Hori, Kazuo Terashima, Carbon Layer Formation on Hexagonal Boron Nitride by Plasma Processing in Hydroquinone Aqueous Solution, ACS Applied Materials & Interfaces, 14-47, 53413-53420(2022-11).

<国際・国内会議>

- 井上健一, 高木直人, 伊藤剛仁, 清水禎樹, 石川健治, 堀勝, 寺嶋和夫, 液中プラズマによるダングリングボンド形成を通じた六方晶窒化ホウ素への官能基修飾, 2023 年第 70 回応用物理学会春季学術講演会, 上智大学, 2023 年 3 月 15 日~18 日 (予定) .
- Kenichi Inoue, Naoto Takagi, Tsuyohito Ito, Yoshiki Shimizu, Kenji Ishikawa, Kohzo Ito, Masaru Hori, Subsequent functionalization of hexagonal boron nitride after plasma processing in solution for preparation of polymer composite materials, 25th International Symposium on Plasma Chemistry (ISPC25), Kyoto, 21~26 May, 2023 (予定) .

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）：布村 正太

所属機関・部局・職名：

産業技術総合研究所・電子光基礎技術研究部門・上級主任研究員

連絡先 住所：〒305-8568 つくば市梅園 1 - 1 - 1

TEL：029-861-5075

E-Mail：s.nunomura@aist.go.jp

共同利用・共同研究課題	和文	プラズマイオン照射に伴う半導体界面欠陥の発生と修復	
	英文	Creation and recovery of semiconductor interface defects by plasma ion irradiation	
研究チーム (氏名・所属機関・部局・職名)	和文	研究代表者	布村正太 産業技術総合研究所・電子光基礎技術研究部門・ 上級主任研究員
		研究分担者	
		センター担当教員	堤 隆嘉 名古屋大学・低温プラズマ科学研究センター・ 物質科学部門
	英文	研究代表者	Shota Nunomura (AIST)
		研究分担者	
		センター担当教員	Takayoshi Tsutsumi (Nagoya Univ.)
研究実績概要 (成果等)	本研究では、先端ロジック半導体や高効率太陽電池に用いられる各種ヘテロ接合 (SiO ₂ /Si 構造や a-Si:H/c-Si 構造) における界面欠陥の発生と修復のメカニズムを解明することを目的とする。本年度は、イオン照射実験と TRIM (TRansportation of Ion in Material)シミュレーションを行い、実験とシミュレーション結果を比較検討した。その結果、イオンの照射エネルギー、照射時間のみならず、イオン種が界面欠陥の発生に影響及ぼすことを見出すとともに、アニール条件の最適化により界面欠陥を修復することが可能であることを見出した。以上の知見を踏まえ、半導体プラズマプロセスの低ダメージ化に向けた指針を産業界に発信するとともに、得られた結果を、JJAP にて論文公開した。		
特筆事項 (受賞、産業財産権 出願取得状況等)			

プラズマイオン照射に伴う半導体界面欠陥の発生と修復

Creation and recovery of semiconductor interface defects

by plasma ion irradiation

布村 正太・産業技術総合研究所・電子光基礎技術研究部門・上級主任研究員
堤 隆嘉・名古屋大学 低温プラズマ科学研究センター 物質科学部門・助教

1. 研究目的

先端半導体、太陽電池、イメージセンサにおけるヘテロ界面の欠陥のマネージメントは、デバイス性能と信頼性の両面から極めて重要である[1]。デバイス内の欠陥は、作製に用いるプラズマプロセスによって形成されることが多いが、その詳細なメカニズムは十分に解明されていない。そこで、本年度は、高効率太陽電池に用いられる水素化アモルファスシリコン(a-Si:H)膜付 c-Si ウエハにアルゴン(Ar)イオンを照射し、a-Si:H/c-Si 界面の欠陥の発生と修復のメカニズムを解明することを目的に研究を進めた。

2. 研究内容と成果

図 1 に実験に用いたサンプルの SEM 及び断面 TEM 像を示す。サンプルは、高効率太陽電池に用いられる p-i stack a-Si:H(7-34nm) / n-type FZ textured c-Si(280 μ m) / i-n stack a-Si:H(20nm)構造とした。サンプルの表面はピラミッド型のミクロンサイズのテクスチャー構造から成り、a-Si:H/c-Si 界面は c-Si の 111 面上に形成されていることが確認できる[2]。

本サンプルを、二周波容量結合型放電装置内の下部電極上に設置しイオン照射実験を行った。Ar ガス雰囲気中で上部電極に高周波(100MHz)を供給しプラズマを生成し、下部電極に低周波(2MHz)を印加しイオンエネルギーを調整した。イオンのエネルギー、照射時間に加え、a-Si:H パッシベーション膜厚を変えた実験を行った。その後、欠陥の修復を調べるため、160 度 2 時間の条件下でアニールを行った。

イオン照射による欠陥の発生及びアニールによる欠陥の修復は、c-Si の少数キャリアのライフタイムにより評価した。ライフタイムの測定には QSSPC 法を用いた。ライフタイムは、キャリアの注入量 10^{15}cm^{-3} にて評価した。

図 2 にイオン照射前、照射後及びアニール後のライフタイム(τ)の変化を示す[2]。図より、イオン照射に伴い、ライフタイムが低下し、a-Si:H/c-Si 構造の界面に欠陥が発生していることが示される。このライフタイムの低下は、イオンエネルギーの増加とともに顕在化し、約 100eV 以上で、ライフタイムがアニール

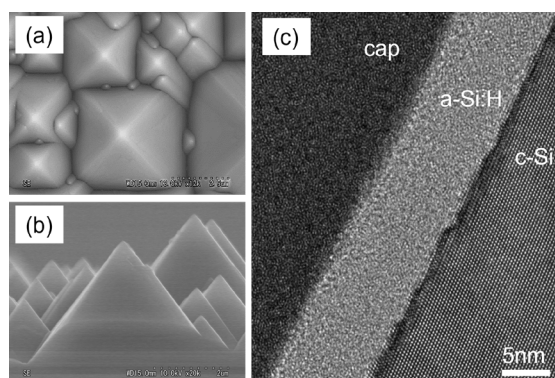


図 1 サンプルの構造と実験装置の概要。
(a) 上面 SEM 像。(b) 断面 SEM 像。
(c) a-Si:H/c-Si の断面 TEM 像[2]。

後に十分に回復しないことが確認できる。この結果は、高エネルギーイオン照射により、サンプル内に残留欠陥が生じ、デバイス特性の劣化を招くことを意味する。

図3に、TRIMのシミュレーション結果を示す[2]。シミュレーションは、Arイオンをa-Si:Hに入射した結果を示す。入射エネルギーが50eVの場合、侵入長は約2nmであり、高エネルギー化に伴い、より深く侵入することが確認できる。入射エネルギーが300eVの場合、4nm以上深く侵入することも確認できる。この結果は、高エネルギーイオンの照射の場合、イオンが、a-Si:H/c-Siの界面近傍にまで到達し、欠陥を形成することを意味する。したがって、入射イオンのエネルギーを低減し、a-Si:H/c-Si界面近傍に欠陥を生成させないことが、デバイスの高性能化に重要であることがわかる。

以上の実験とシミュレーションより、Arイオン照射に伴うa-Si:H/c-Si界面欠陥の発生と修復に関する詳細なデータを取得しデバイスの高性能化に関する知見を得た。今後は、デバイス構造・材料・プロセスを先端半導体ロジックや各種メモリ用途に変え、半導体デバイス全般の高性能化に向けたより具体的な指針・方策を提供・発信していく。

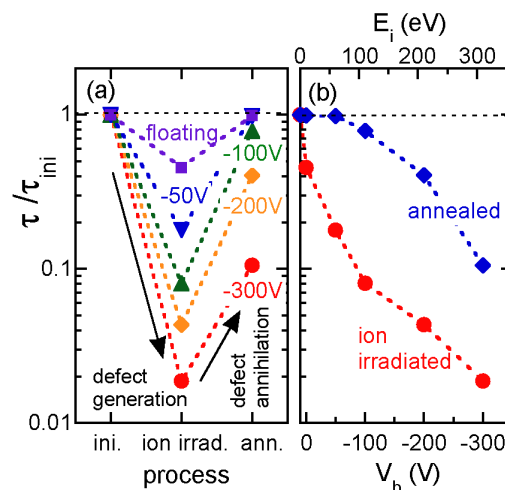


図2 イオン照射前、照射後、アニール後のc-Si基板のライフタイムの変化。イオン照射エネルギーの依存性を示す[2]。

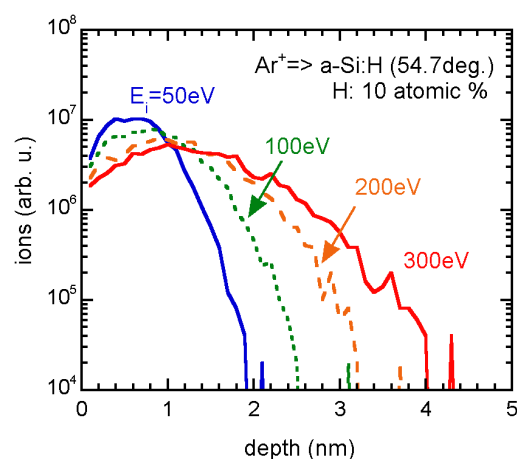


図3 TRIMシミュレーション結果。イオンエネルギーの侵入深さ分布を示す[2]。

[1] 布村正太, 応用物理 **90**, 91 (2021).

[2] S. Nunomura *et al.*, Jpn. J. Appl. Phys. **61**, 056003 (2022).

【研究成果の公表状況】

<原著論文>

- Shota Nunomura, Takayoshi Tsutsumi, Kazuya Nakane, Aiko Sato, Isao Sakata, and Masaru Hori, Ion-induced interface defects in a-Si:H/c-Si heterojunction: possible roles and kinetics of hot mobile hydrogens, *Japanese Journal of Applied Physics* **61**, 056003 (2022).

<国際・国内会議>

- 布村 正太, 坂田 功, 堤 隆嘉, 堀 勝, “熱酸化膜/シリコン界面でのプラズマ誘起欠陥の発生と修復”, 2023年 第70回応用物理学会 春季学術講演会, 上智大ハイブリット開催, 2023/3/17.

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）： 原 宏和

所属機関・部局・職名： 岐阜薬科大学・薬学部・教授

連絡先 住所：〒501-1196 岐阜市大学西 1-25-4

TEL：058-230-8100

E-Mail：harah@gifu-pu.ac.jp

共同利用・共同 研究課題	和文	低温プラズマを利用したがん治療の新規治療戦略の確立	
	英文	Development of novel strategies in cancer treatment using non-thermal plasma	
研究チーム (氏名・所属 機関・部局・職 名)	和文	研究代表者	原 宏和・岐阜薬科大学・薬学部・教授
		研究分担者	神谷哲朗・岐阜薬科大学・薬学部・准教授
		センター担当教員	石川健治・低温プラズマ科学研究センター・教授
	英文	研究代表者	Hirokazu Hara・Gifu Pharmaceutical University・ Professor
		研究分担者	Tetsuro Kamiya・Gifu Pharmaceutical University・ Associate professor
		センター担当教員	Kenji Ishikawa・Plasma Medical Science Global Innovation Center, Nagoya University・Professor
研究実績概要 (成果等)	<p>がん細胞ではアミノ酸代謝のリプログラミングが起こり、グルタミンの需要が増大している。そこで、本研究では、細胞におけるグルタミン代謝に重要なグルタミナーゼの阻害剤 BPTES がプラズマ活性化培地（PAM）の殺細胞活性に及ぼす影響を検討した。PAM による乳がん細胞株 MDA-MB-231 細胞の細胞傷害は BPTES 処理細胞で増大したが、正常細胞の線維芽細胞では、BPTES による細胞傷害の増大は認められなかった。また、BPTES 処理した細胞では PAM 単独処理に比較し、細胞内活性酸素種の産生は亢進し、細胞内グルタチオンは減少した。これらの結果から、BPTES は細胞の抗酸化能を低下させることで PAM の殺細胞活性を増強する可能性が示唆された。</p>		
特筆事項 (受賞、産業財産 権出願取得状況 等)			

低温プラズマを利用したがん治療の新規治療戦略の確立

Development of novel strategies in cancer treatment using non-thermal plasma

研究代表者 原 宏和・岐阜薬科大学・薬学部・教授

研究分担者 神谷哲朗・岐阜薬科大学・薬学部・准教授

研究所担当 石川健治・名古屋大学・低温プラズマ科学研究センター・教授

1. 研究目的

本研究の目的は、低温プラズマ (NTP) によるがん治療効果を増強させるための新規戦略の開発に取り組み、プラズマ医療の分子基盤の確立につながるエビデンスを得ることである。

NTP を照射した溶液 (plasma-activated medium, PAM や plasma-activated Ringer's lactate solution, PAL) はがん選択的な抗がん活性を示すことが報告されている。しかし、抗がん活性を増強するために強い NTP 照射条件で調製した高活性 PAM は、正常細胞にも傷害を引き起こす。それゆえ、他の薬剤と併用することで、PAM の抗がん活性を増強することができれば、副作用が少なく、より効果的な NTP のがん治療が実施可能になると考えられる。

2. 研究内容と成果

2-1. PAM の細胞傷害に対するグルタミン代謝阻害の効果

がん細胞ではアミノ酸代謝のリプログラミングが起こり、グルタミンの需要が増大している。そこで、本研究では、がん細胞のグルタミン代謝に着目した。PAM による細胞死にはエネルギー産生障害が関与していることから、グルタミンの補給を断つことは、PAM の細胞傷害を増強させるのではないかと考えた。グルタミンはグルタミントランスポーター ASCT2 により細胞に取り込まれた後、グルタミンナーゼ GLS1 によりグルタミン酸に代謝される (図 1)。その後、 α -ケトグルタル酸に変換され TCA 回路に入り、ATP 産生に利用される。そこで、GLS1 の阻害剤 BPTES が PAM の細胞傷害に及ぼす影響を検討した。

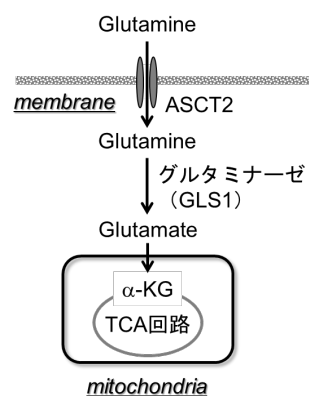


図1 細胞のグルタミン代謝

グルタミンナーゼ阻害剤 BPTES で乳がん細胞株 MDA-MB-231 細胞を 24 時間前処置した後、PAM を曝露し細胞傷害を測定した。細胞傷害は BPTES 処理細胞で増大したが、正常細胞の線維芽細胞では、BPTES による細胞傷害性に変化は認められなかった。PAM の細胞傷害では、細胞内 ATP の減少などエネルギー分子の産生が低下する。本検討においても、PAM 曝露による ATP の産生低下は、BPTES 処理細胞で増大した。

グルタミンは生体内で代謝されグルタミン酸となり、生体の抗酸化物質であるグルタチオンの産生に寄与している。BPTES によりグルタミン酸の供給が低下すると、グル

タチオンの産生も低下すると考えられることから、細胞の抗酸化能にも影響を及ぼす可能性がある。そこで、PAMにより引き起こされる酸化ストレスに対するBPTESの影響を検討した。BPTES処理細胞ではPAM単独処理に比較し、細胞内活性酸素種の産生が亢進し、DNA損傷マーカーである γ -H2AXが増大した。さらに、細胞内グルタチオンはBPTES処理細胞で減少した。これらの結果から、BPTESのPAM傷害増強作用は、BPTES処理により細胞の抗酸化能を低下させることで発揮される可能性が示唆された。

2-2. NTP照射メチオニン (Met) 溶液の抗がん活性の検証

Metはがん細胞の生存にも重要なアミノ酸であるが、NTP照射したMet溶液は強い抗がん活性を示すことが報告されている。しかし、現在、その機序は未解明である。この溶液の細胞傷害機序の解明に取り組むために、本研究では、より活性の強いNTP照射Met溶液を作製する条件を検討した。その結果、高濃度のMetにごく短時間NTP照射することで効率よく細胞傷害を誘発させる照射条件を確立した。

【研究成果の公表状況】

<国際・国内会議>

Tanaka S, Tanahashi S, Nagaya M, Kamiya T, Hara H. Effects of metabolic inhibitors on plasma-activated medium-induced cytotoxicity, ISPlasma 2023, Gifu, 2023.3.5 - 3.9.

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）：町田千代子

所属機関・部局・職名：中部大学・特定教授

連絡先 住所：〒487-8501 愛知県春日井市松本町 1200

TEL：0568-51-6276

E-Mail：cmachida@isc.chubu.ac.jp

共同利用・共同 研究課題	和文	低温プラズマ処理による甲州ブドウ苗の生育促進とカビの防御		
	英文	Growth promotion and defense against mold of non virus-infected 'Koshu' grape by low temperature plasma treatment		
研究チーム (氏名・所属 機関・部局・職 名)	和文	研究代表者	町田千代子（中部大学・特定教授）	
		研究分担者	小島晶子（中部大学・応用生物学部・准教授） 金政 真（中部大学・応用生物学部・准教授） 金丸 京子（中部大学・応用生物学部・准教授） 橋爪博司（名古屋大学・特任講師） 松本省吾（名古屋大学・教授）	
		センター担当教員	松本省吾 バイオシステム科学部門	
	英文	研究代表者	Chiyoko Machida (Chubu Univ., Senior Research Professor)	
		研究分担者	Shoko Kojima; Shin Kanamasa; Kyoko Kanamaru (Chubu Univ.) Hiroshi Hashizume; Shogo Matsumoto (Nagoya Univ.)	
		センター担当教員	Shogo Matsumoto	
研究実績概要 (成果等)	我々はこれまでに甲州ブドウ樹の成長点培養に最適な植物ホルモン組成と濃度を検討し、成長点培養系を確立した。しかしながら培養した茎葉の生育が遅いためさらなる効率の向上と生育促進が必要である。本研究では、植物培養において常に問題となる、カビに対する防御に最適な条件を検討して培養効率を上げることを目的とした。今回、カビのモデルとして糸状菌を用いて、低温プラズマ処理溶液（乳酸ナトリウム）を含む液体最少培地で培養し、分生子の発芽や菌糸伸長への影響を観察したところ、分生子が膨張し伸長菌糸が太くなることが確認された。その効果の分子的解明をすることにより、今後、低温プラズマ処理液のカビに対する汎用性の向上が期待される。			
特筆事項（受賞、産業財産権出願取得状況等）	無			

低温プラズマ処理による甲州ブドウ苗の生育促進とカビの防御

Growth promotion and defense against mold of non virus-infected 'Koshu' grape by low temperature plasma treatment

研究代表者 町田千代子・中部大学・特定教授
研究分担者 小島晶子・中部大学・応用生物学部・准教授
金政 真・中部大学・応用生物学部・准教授
金丸京子・中部大学・応用生物学部・准教授
橋爪博司・名古屋大学・未来社会創造機構・特任助教
松本省吾・名古屋大学大学院・生命農学研究科・教授
研究所担当教員 松本省吾・バイオシステム科学部門・教授

1. 研究目的

我々はこれまでに甲州ブドウ樹の成長点培養に最適な植物ホルモン組成と濃度を検討し、成長点培養系を確立した。しかしながら培養した茎葉の生育が遅いためさらなる効率の向上と生育促進が必要である。本研究では、植物培養において常に問題となる、カビに対する防御に最適な条件を検討して培養効率を上げることを目的とした。糸状菌はカビの中でも分子生物学的研究が進んでいる。しかしながら、低温プラズマが糸状菌の生育にどのような効果を持つかについてはほとんど研究されていない。

2. 研究内容と成果

① *Aspergillus oryzae* (ニホンコウジカビ) は、多くの有用な酵素や代謝物を生産することから応用面でも有用な糸状菌である。そこで、*A. oryzae* を、低温プラズマ処理溶液(乳酸ナトリウム)を含む液体最少培地で培養し、分生子の発芽や菌糸伸長への影響を顕微鏡下で観察した。その結果、処理前の乳酸ナトリウム液を含む培地と比べ、分生子が膨張し、伸長菌糸が太くなることが確認された。糸状菌では、休眠している分生子が再び活動を開始する際には、分生子が給水して膨張後、菌糸伸長を開始するため、この観察結果は、処理溶液による *A. oryzae* の生育促進を示唆すると考えられる。また、プラズマ処理溶液の保存温度によって、*A. oryzae* の生育に対する効果が異なる可能性が示唆された。低温プラズマ処理溶液(乳酸ナトリウム)の成分分析を行う必要がある。

② *Aspergillus terreus* はイタコン酸生産糸状菌である。イタコン酸はプラスチックなどの工業原料に広く利用されている。低温プラズマ処理溶液(乳酸ナトリウム)を含む液体培地を用いて、*A. terreus* の生育、および、イタコン酸生産・分泌に関する遺伝子の発現レベルを解析した。その結果、生育には影響はないが、イタコン酸の分泌に関する遺伝子の発現レベルに変化が認められた。

以上の結果から、カビの生育促進と抑制効果の両面から解析する必要があること、さらにその効果の分子的解明をすることが重要であると考えられた。

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）： 松浦寛人

所属機関・部局・職名：大阪公立大学・研究推進機構・教授

連絡先 住所：〒599-8570 堺市学園町 1-2

TEL：072-254-7149

E-Mail：matsu.plasma@omu.ac.jp

共同利用・共同 研究課題	和文	プラズマ界面反応におよぼす酸素添付の効果		
	英文	Effect of oxygen addition on plasma surface interaction		
研究チーム (氏名・所属 機関・部局・職 名)	和文	研究代表者	松浦寛人・大阪公立大学・研究推進機構・教授	
		研究分担者	朝田良子・大阪公立大学・研究推進機構・助教 古田雅一・大阪公立大学・研究推進機構・教授 武村祐一朗・近畿大学・理工学部・准教授 (他大学院生 1 名)	
		センター担当教員	豊田浩孝・プラズマ科学部門・教授	
	英文	研究代表者	Hiroto Matsuura・OMU・Res. Prom. Org.・Professor	
		研究分担者	Ryoko Asada・OMU・Res. Prom. Org.・Assist. Professor Masakazu Furuta・OMU・Res. Prom. Org.・Professor Yuichiro Takemura・Kindai・Sci.Eng.・Assoc. Professor (Other 1 graduate students)	
		センター担当教員	Hirotaka Toyoda・Plasma Science Division・Professor	
研究実績概要 (成果等)	プラズマ照射された PVA KI サンプルの呈色反応と放電ガス Ar に添付された酸素ガスの影響を注意深く検討した。名古屋大学で開発された長尺大気圧マイクロ波プラズマ装置を使った実験では一見、矛盾するよう見える結果が得られたが、活性酸素ラジカル生成だけでなくプラズマ生成にも、酸素ガスが影響をおよぼすためであると解釈できる。少量の酸素ガスの添付は、ラジカル生成を大きく促進することには変わりはない。			
特筆事項 (受賞、産業財産 権出願取得状況 等)				

プラズマ界面反応におよぼす酸素添付の効果

Effect of oxygen addition on plasma surface interaction

松浦寛人・大阪公立大学・研究推進機構・教授
朝田良子・大阪公立大学・研究推進機構・助教
古田雅一・大阪公立大学・研究推進機構・教授
武村祐一朗・近畿大学・理工学部・准教授
豊田浩孝・名古屋大学・プラズマ科学部門

1. 研究目的

本研究は、大気圧プラズマの照射を受けた液体および固体での界面反応を引き起こす活性酸素ラジカル(ROS)の生成過程についての知見を得ることを目的とする。液体とプラズマの反応を利用したものは化学プローブとして、また固体との反応を利用したものは触媒プローブとして提案されている。大気圧プラズマによる ROS の生成量に影響を与える大きなファクターとして、放電ガスに添付する酸素量が挙げられる。従って、これらのプローブに付随する化学反応を検討しつつ、酸素ガスの混合量を変えた時に、計測される ROS の最適化を進めることにより、界面反応についての新たな知見を得ることができると期待される。

2. 研究内容と成果

昨年度に引き続き、名古屋大学で開発された長尺大気圧マイクロ波プラズマ装置を使って、活性酸素ラジカル生成量と酸素ガス添加の関係を調べた。図 1 は、アルゴンガス 28 slm に 1,2,4,6% の酸素ガスを添付した時にプラズマ照射された液状の PVA-KI 化学プローブの写真を比較している。プラズマ源に与える電力は 3 kW で、30 秒照射を行っている。

昨年度の予備的実験からは、酸素を 2~4%添付した場合には、ラジカル生成の最大値が見いだされると予想されていたが、今年度の実験では酸素添付量を増すほどに、ラジカル生成量が逆に減少するように見える。

今回使用した液状のサンプルでは、サンプル容器と交差する長尺プラズマ

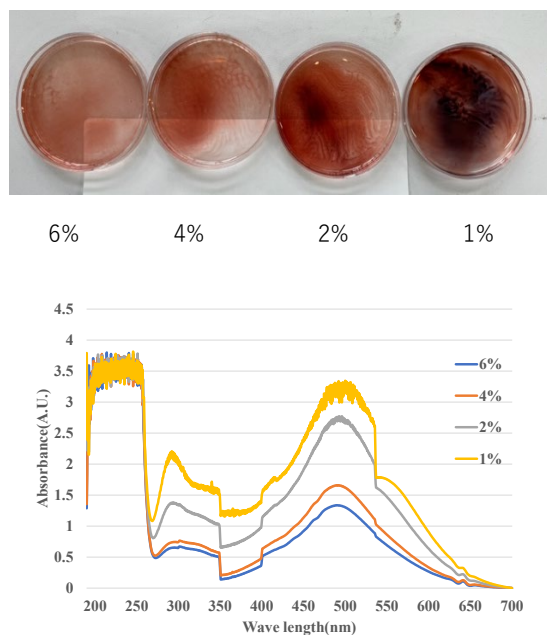


図 1 異なる酸素添付プラズマで照射された PVA-KI サンプルと吸光度スペクトル。

からの全ての活性ラジカルの寄与を足し合わせている。しかしながら、実験を行った酸素濃度の範囲では、プラズマ発光が分断され、濃度の増加とともにプラズマが生成されていないとみなされる暗黒部が増えることが観測されている。したがって、酸素量の大きな放電では、ラジカル生成に寄与するプラズマの容積が減少したため化学プローブで検出したラジカル量が見かけ上減少したと解釈できる。そのため、現在、DBD ジェットタイプのプラズマ源においても、酸素添付の効果を調べ、比較を試みている。

【研究成果の公表状況】

<原著論文>

- T.N.Tran, B.Oanthavinsak, J.Sakamoto, H.Matsuura, “Suppression of Plasma Source Temperature for Long Irradiation Using a Plasma Argon Jet”, IEEJ Transaction on Fundamentals and Materials, Vol.142(No.2), 37-44, 2022, (発行済) .
- T.N.Tran, M.Hu, T.Ogasawara, Y.Iwata, H.Suzuki, J.Sakamoto, M.Akiyoshi, H.Toyoda, H.Matsuura, “Polyvinyl alcohol–potassium iodide gel probe to monitor the distribution of reactive species generation around atmospheric-pressure plasma jet”, Plasma Science and Technology, Vol.25, 2023, (印刷中)DOI 10.1088/2058-6272/ac9891.

<国際・国内会議>

- 松浦寛人, 胡敏, トラントラングエン, 坂元仁, “過酸化水素を用いたラジカル計測用化学プローブの校正の試み”, 第 39 回プラズマプロセッシング研究会, オンライン, 令和 4 年 1 月 24 日.
- T.N.Tran, M.Hu, R.Asada, J.Sakamoto, H.Matsuura, “Visualization of Reactive Oxygen Species Distribution around Argon Plasma Jet with Chemical Probe”, 14th International Symposium on Advanced Plasma Science and its Applications for Nitrides and Nanomaterials, Nagoya University-online, March 8, 2022.
- T.N.Tran, H.Matsuura, "Visualization of reactive species produced by ethanol/argon plasma jet with a gel-type chemical probe", 15th Asia Pacific Physics Conference, Seoul-hybrid, August 22, 2022.
- 松浦寛人、トラントラングエン、胡敏、仲野匠、岩田悠揮、鈴木陽香、豊田浩孝, “化学プローブを用いた長尺大気圧プラズマ生成活性ラジカルの可視化”, 第 83 回応用物理学会秋季学術講演会、東北大, 令和 4 年 9 月 20 日.
- H.Matsuura, T.N.Tran, H.Min, T.Nakano, "Effect of alcohol addition on radical production", 11th International Conference on Reactive Plasmas/75th Annual Gaseous Electronics Conference, Sendai, October 4, 2022.
- H.Matsuura, T.Nakano, T.N.Tran, "Calorimetric measurement of reactive species amount and surface reaction of plasma irradiated target", 43rd International Symposium on Dry Process, Osaka-hybrid, November 24, 2022.
- H.Matsuura, T.Nakano and B.X.Nhat Son, "Multi-dimensional Temperature Response Of Plasma-irradiated Solid/Liquid Surface", 20th International Congress on Plasma Physics, Gyeongju(Korea), November 29, 2022.

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）：山田繁

所属機関・部局・職名：岐阜大学・工学部・助教

連絡先 住所：〒501-1112 岐阜県岐阜市柳戸 1-1

TEL：058-293-2769

E-Mail：yamasgr@gifu-u.ac.jp

共同利用・共同 研究課題	和文	Si/SiO ₂ 超格子ナノホールアレイ形成プロセスの開発	
	英文	Development of fabrication process of Si/SiO ₂ superlattice nanohole array	
研究チーム (氏名・所属 機関・部局・職 名)	和文	研究代表者	山田繁・岐阜大学・工学部・助教
		研究分担者	伊藤貴司・岐阜大学・工学部・教授
		センター担当教員	近藤博基・名古屋大学・低温プラズマ科学研究センター・ 准教授
	英文	研究代表者	Shigeru Yamada
		研究分担者	Takashi Itoh
		センター担当教員	Hiroki Kondo
研究実績概要 (成果等)	Si/SiO ₂ 超格子ナノホールアレイ構造の形成に先立ち、ホットワイヤー法を用いた水素ラジカル処理による欠陥低減技術の開発を行った。本研究により、水素ラジカル処理を Si/SiO ₂ 超格子膜に施すことにより、膜中のシリコンダングリングボンド欠陥を低減させることに成功した。今後ナノホールアレイ構造を形成することによって、より高い水素導入効果を期待することができる。		
特筆事項 (受賞、産業財産 権出願取得状況 等)	特になし		

Si/SiO₂ 超格子ナノホールアレイ形成プロセスの開発 Development of fabrication process of Si/SiO₂ superlattice nanohole array

研究代表者：山田繁・岐阜大学・工学部・助教

研究分担者：伊藤貴司・岐阜大学・工学部・教授

研究所担当：近藤博基・名古屋大学・低温プラズマ科学研究センター・准教授

1. 研究目的

Si 系量子構造の 1 つである Si/SiO₂ 多層膜は、Si 層の厚さを制御することによってバンドギャップエネルギーを制御することが可能な材料であり、太陽電池の光吸収層への応用の可能性を秘めている。しかし、SiO₂ 層がキャリア輸送の妨げとなるため、短絡電流を向上させるためには構造的には薄く、光学的に厚い光閉じ込め構造が必要となる。また、多数の Si ダングリングボンド欠陥が膜中に存在しているため、開放電圧を向上させるためには水素による欠陥終端技術が必要となる。そこで本共同研究では、高い光閉じ込め構造を有し、なおかつ膜中への水素導入効果を向上させることが期待できる超格子ナノホールアレイの形成プロセスの開発を目指す。前年度までに、Si/SiO₂ 超格子ナノホールアレイを作製するために必要な Al マスクパターンの形成プロセスを確立してきた。しかし、ナノホールアレイ構造を形成したところで、実際に水素による欠陥低減技術が確立できていなければ、水素導入効果の向上を確かめることができない。そこで本年度は、ホットワイヤー法を用いた水素ラジカル処理による欠陥低減技術の開発に注力した。

2. 研究内容と成果

RF マグネトロンスパッタ法によって、石英基板上に Si/SiO₂ 超格子を堆積し、その後 N₂ ガス雰囲気下で 1000 °C の熱アニール処理を 1 時間行った。熱アニール処理した試料は、ホットワイヤー法の原理を利用した水素ラジカル処理装置を用いて水素ラジカル処理を行った。タングステンフィラメント温度を 1650 °C、水素圧力を 266 Pa、処理時間を 30 min とし、基板加熱温度は 200 °C から 600 °C で変化させて処理を行った。試料中の欠陥量は、電子スピン共鳴(ESR)法によって評価した。

図 1 に水素ラジカル処理前の Si/SiO₂ 超格子の ESR スペクトルの一例を示す。実測したスペクトルを実線で示している。複数のスペクトルが重なっており、このスペクトルを 4 つのローレンツ関数に波形分離できることがわかった。波形分離したスペクトルは破線で示している。それぞれのピークの g 値より、アモルファス Si 相で観測される Si ダングリングボンド、P_b センター、E' センター、正孔のスピンに起因しているピークが観測されていることがわかる。特に、アモルファス Si 相で観測される Si ダングリングボンドと P_b センターが太陽電池特性に大きな悪影響を与えるため、これらの欠陥を低減することが重要となる。図 2 に水素ラジカル処理前後の、主たる Si ダングリングボンドのスピン量比の基板加熱温度依存性を示す。ここで、N₀ は水素ラジカル処理前のス

ピン量、 N_b は処理後のスピンの量を示している。基板加熱温度が上昇するにしたがって、スピン量比が減少していることがわかった。このことから、Si/SiO₂ 超格子膜表面より膜内に水素が入り、膜中に水素が熱拡散することによって、膜内の欠陥が低減していることが示唆される。しかし、Si 層の厚さが薄くなってくると、このスピン量比の減少率が小さくなっていることがわかった。これは、SiO₂ 層中での水素拡散が起こりにくく、Si 層の割合の少ない膜については、膜の奥深くまで水素が拡散しにくくなっている可能性が考えられる。以上のことから、水素導入効果をより向上させるためには、試料表面からだけでなく、形成したナノホール側面からの水素導入を促すことが必要となる。

今後はより安定した Al マスクパターン形成プロセスを確立し、反応性イオンエッチングによって Si/SiO₂ 超格子ナノホールアレイ構造の形成を目指す。さらに、Si/SiO₂ 超格子ナノホールアレイ構造とすることによる欠陥低減の効果を検証する。

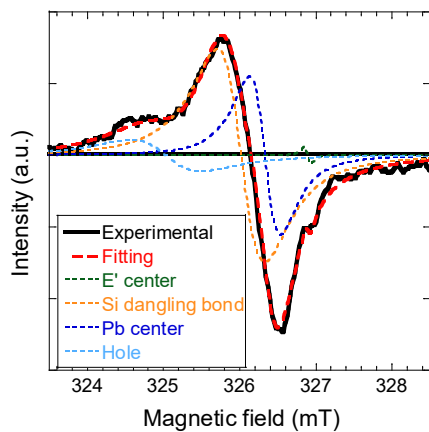


Fig.1 水素ラジカル処理前の Si/SiO₂ 超格子の ESR スペクトル。

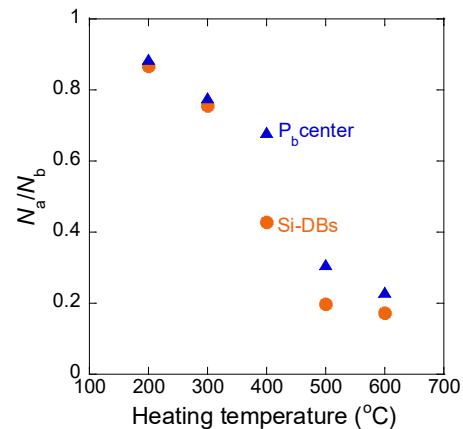


Fig.2 水素ラジカル処理前後のスピン量比の基板加熱温度依存性。

【研究成果の公表状況】

< 国際・国内会議 >

- Shigeru Yamada, Yuki Nishi, Yuto Ebata, Naoki Matsuo and Takashi Itoh, Investigation of Defects in Si/SiO₂ Multilayer Films by Electron Spin Resonance, The 33rd International Science and Engineering Conference, Nagoya, Japan, 2022 年 11 月 13 日～17 日.
- Shigeru Yamada, Naoki Matsuo, Tomohiro Deto, Tomoki Fujisawa and Takashi Itoh, Defect Reduction in Si/SiO₂ Multilayer Films by Hydrogen Radical Treatment, ISPlasma2023/IC-PLANTS2023, Gifu, Japan, 2023 年 3 月 5 日～9 日.

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）：余語克紀

所属機関・部局・職名：名古屋大学医学系研究科総合保健学専攻・助教

連絡先 住所：〒461-8673 名古屋市東区大幸南 1-1-20

TEL：052-719-1103

E-Mail：yogo@met.nagoya-u.ac.jp

共同利用・共同 研究課題	和文	金ナノ粒子併用プラズマ治療に向けた DNA 損傷の増強効果の検証		
	英文	Study of DNA damages induced by plasma with gold nanoparticles		
研究チーム (氏名・所属 機関・部局・職 名)	和文	研究代表者	余語克紀・名古屋大学・医学系研究科・総合保健学専攻・助教	
		研究分担者		
		センター担当教員	田中宏昌・バイオシステム科学部門	
	英文	研究代表者	Katsunori Yogo, Graduate School of Medicine, Nagoya University, Assistant Professor	
		研究分担者		
		センター担当教員	Hiromasa Tanaka, Biosystem science division, Professor	
研究実績概要 (成果等)	本申請では、DNA 指向性を持つ金ナノ粒子を開発し、プラズマ照射と金ナノ粒子の併用によって、プラズマ治療への効果増強が期待できないかと考えた。まず <i>in vitro</i> でプラズマ照射による DNA 損傷を定量的に明らかにし、金ナノ粒子併用での効果増強を調べることを目的とする。今年度は、サンプルやデータの再解析を行った。データのバラつきが大きく、金ナノ粒子併用による増強を示唆するデータは、まだ得られていない。今後、照射法の再現性を高め、実験回数を増やして、効果の増強があるか明らかにしたい。またがん細胞での効果検証の準備を始めた。			
特筆事項 (受賞、産業財産 権出願取得状況 等)	なし			

金ナノ粒子併用プラズマ治療に向けた DNA 損傷の増強効果の検証

Study of DNA damages induced by plasma with gold nanoparticles

余語克紀・名古屋大学・医学系研究科総合保健学専攻・助教
田中宏昌・名古屋大学・低温プラズマ科学研究センター・教授

1. 研究目的

がん放射線治療の効果を高めるために、金ナノ粒子の併用が有望であるが、金ナノ粒子を大量に必要とする点が臨床応用に向け課題の一つである。放射線によるがん細胞の死滅は、活性酸素等による DNA 損傷が引き金になっていることが知られているため、金ナノ粒子にプラス電荷を修飾し、DNA 指向性を持つ金ナノ粒子を開発した。In vitro 実験で、放射線誘発 DNA 損傷に対するプラス金ナノ粒子の増強効果を調べたところ、従来から 200-1,000 倍薄い濃度で十分な DNA 損傷の増強効果（約 1.5 倍）を得られ、金ナノ粒子の用量を減らすための解決の糸口を得た。本申請では、同様の効果がプラズマ照射と金ナノ粒子の併用でも得られ、プラズマ治療への増強効果が期待できないかと考えた。まず in vitro でプラズマ照射による DNA 損傷を定量的に明らかにし、金ナノ粒子併用での効果増強を調べることを目的とする。

2. 研究内容と成果

【1. DNA 損傷と活性酸素種の生成の評価】

プラズマ照射によって DNA に生じる変化を調べた。鶴舞の先端医療・臨床研究支援センターにある JR 2200N mini (JANOME ; 通称”幅広”) からの大気圧低温アルゴンプラズマを用いた。プラスチックチューブの蓋を容器として利用し、溶液 60 μ l を入れ、解放系として液面へプラズマを照射した。プラズマは、吹き出し口に直径~6mm 程度の絞りをつけて、容器サイズに合わせて照射した。

基質に超らせん状 (プラスミド) DNA を用いることで、DNA 切断を DNA 電気泳動法で高感度に検出した。DNA 2 本鎖切断は直線状、1 本鎖切断は開いた環状、切断なしは超らせん状 DNA のバンドとなり、照射前後の割合をとった。また金ナノ粒子のあり

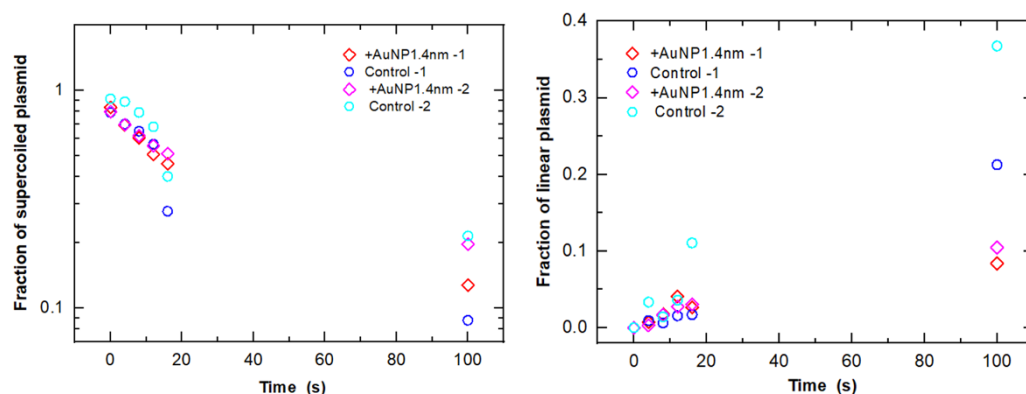


図 1. プラズマ誘発の DNA 損傷に対する金ナノ粒子の影響 (左;超らせん状 DNA の割合による一本鎖損傷の評価, 右;直線状 DNA の割合変化による二本鎖損傷の評価)

なしで、プラズマ誘発の DNA 損傷に変化がないか調べた。

昨年度の電気泳動のバンドに不明瞭な点があったため、今年度は照射サンプルやデータの再解析を行った。プラズマ誘発の DNA 損傷は、照射時間とともに増えた (図 1)。データのバラつきが大きく、金ナノ粒子添加による DNA 損傷の増強については、現時点では、有意差が見られていないと考えている。特異的な蛍光試薬を用いて活性酸素種 (ROS) の生成を調べたところ、プラズマ照射~20 秒と X 線照射~10-20Gy (~数分) が同程度の OH ラジカルを生成していることが確認できた (図 2)。その後、100 秒では、ROS 蛍光試薬の輝度の飽和現象が見られており、20-100 秒の間でのデータ追加が課題と考えられる。また、液体サンプルとプラズマの照射軸との位置合わせや、液面とプラズマ出口との高さ調整を再現性良く、かつ素早く行うことなどが課題と考えられる。引き続き、サンプル照射法の再現性を高め、実験回数を増やして、効果の増強があるか明らかにしたい。

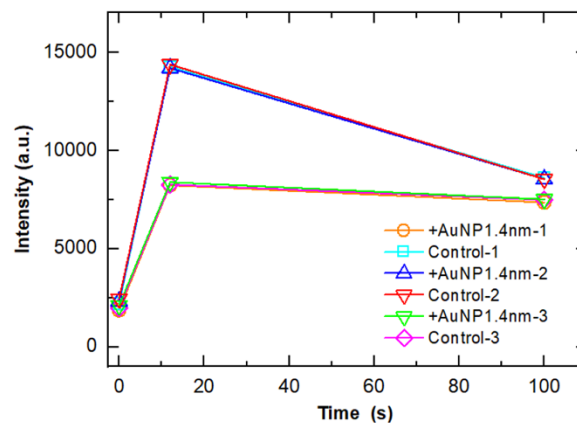


図 2. プラズマ照射による活性酸素種(ROS)生成に対する金ナノ粒子の影響

【2.がん細胞実験の準備】

プラズマ照射と金ナノ粒子の併用による、プラズマ治療への効果増強がないかを調べるため、がん細胞実験の準備を始めた。がん細胞実験に必要な機器、試薬などの購入を進めた。効果を検証するがん細胞として、ヒト由来の HeLa (子宮頸がん) を選び、入手した。細胞への照射法を検討した結果、一度に多数のサンプル数を照射可能な点で、96 well プレートを用いる方法を採用した (図 3)。まず DNA 標的型金ナノ粒子 (+AuNP) の細胞に対する毒性試験を行った。細胞の生存率は、1.4nm 金ナノ粒子 (200 ng/ml) では、3 日間では 80%であったが、5 日間では 0%であった。粒径の小さな金ナノ粒子は細胞毒性が強いことが分かり、この濃度あたりが最大濃度と考えられる。

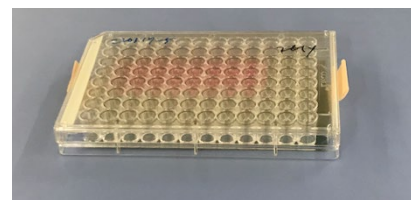


図 3. がん細胞実験の様子

【研究成果の公表状況】なし

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者 (研究代表者) : 吉岡 泰

所属機関・部局・職名 : 名古屋大学・大学院理学研究科・准教授

連絡先 住所 : 〒464-8602 愛知県名古屋市千種区不老町名古屋大学

TEL : 052-789-2537

E-Mail : yoshioka@bio.nagoya-u.ac.jp

共同利用・共同 研究課題	和文	低温プラズマを利用した植物遺伝子改変方法の改善		
	英文	Application of low temperature plasma to improve genetic modification technology in plants		
研究チーム (氏名・所属 機関・部局・職 名)	和文	研究代表者	吉岡 泰	
		研究分担者	井藤大也 (名古屋大学・理学研究科・M2)、石垣晋一郎 (名古屋大学・生命農学研究科・M2)、橋爪博司 (名古屋大学・低温プラズマ科学研究センター・特任講師)、松本省吾 (名古屋大学・生命農学研究科・教授)	
		センター担当教員	松本省吾・バイオシステム科学部門	
	英文	研究代表者	Yasushi Yoshioka (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ., Associate Prof.)	
		研究分担者	Hironari Ito (Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ., M2), Sin-ichiro Ishigaki (Grad. Sch. Bioagri. Sci., Nagoya Univ., M2), Hiroshi Hashizume (Center Low-temperature Plasma Sci., Nagoya Univ., Designated Associate Prof.), Shogo Matsumoto (Grad. Sch. Bioagri. Sci., Nagoya Univ., Prof.)	
		センター担当教員	Shogo Matsumoto (Biosystem science division)	
研究実績概要 (成果等)	今年度、低温プラズマ照射によるラン幼植物体 (プロトコーム) 細胞へのタンパク質、核酸の直接導入を目指して条件検討を行い、GFP タンパク質が細胞内に取り込まれる条件を確立した。播種後 3-5 週目プロトコームを 5 μ M GFP タンパク質を含む 1/2NP 培地に浸し、アースを取ったペン型の照射装置を用い 75 秒間のアルゴン低温プラズマ照射によって 58% のプロトコームにおいて GFP の蛍光が検出された。さらに、プロトコームの一部の細胞をプロトプラストすることによって、GFP タンパク質が細胞内部に取り込まれていることが確認できた。			
特筆事項 (受賞、産業財産 権出願取得状況 等)	該当なし			

低温プラズマを利用した植物遺伝子改変方法の改善

Application of low temperature plasma to improve genetic modification technology in plants

吉岡 泰・名古屋大学・理学研究科・准教授

橋爪 博司・名古屋大学・低温プラズマ科学研究センター・特任講師

井藤 大也・名古屋大学・理学研究科・M2

石垣 晋一郎・名古屋大学・生命農学研究科・M2

松本 省吾・名古屋大学・生命農学研究科・教授

1. 研究目的

本研究の目的は低温プラズマを利用した植物、特にコショウランの効率の良い遺伝子改変法を確立することである。植物病原菌アグロバクテリウム介した遺伝子導入を利用した植物遺伝子改変法は最も一般的なコショウランへの遺伝子改変法であるが、その遺伝子導入効率は高くない。また、アグロバクテリウムを用いた遺伝子改変は、遺伝子組換え体の作出を伴う。低温プラズマを利用した植物細胞へのタンパク質、核酸の直接導入が実用化すれば、遺伝子組み換え体の作出を必要しない遺伝子改変が植物において可能となる。我々は昨年度低温プラズマ照射によってコショウラン細胞への蛍光物質標識した高分子化合物の導入条件を確立したが、今年度はその成果に基づき低温プラズマ処理によるコショウランへのタンパク質直接導入条件を検討した。

2. 研究内容と成果

昨年度までにペン型の低温プラズマ発生装置を用いた 15-150 秒間のヘリウム低温プラズマ処理により、1/2NP 培地に浸したコショウランランのプロトコーム（発芽後に生じる大きさ数ミリの球状幼植物体）に分子量 10,000 の蛍光色素 FITC を付加した dextran (FITC-dextran) が導入可能であることを示した。今年度は、大腸菌から精製した GFP タンパク質（分子量約 27,000）を用いて、低温プラズマ照射によるコショウランランのプロトコームへの導入条件の検討を行った。その結果、5 μ M GFP を含む 1/2NP 培地に浸したプロトコームに対して、75 秒間ヘリウム低温プラズマを照射することによって、植物体にダメージを与えることなく、58%のプロトコームに GFP タンパク質が導入できた（図 1）。さらに、GFP が導入されたプロトコームの一部の細胞を酵素処理によってプロトプラスト化し、GFP が細胞表面に付着しているのではなく、細胞内に取り込まれていることを確認した（図 2）。コショウランのゲノム編集にはアグロバクテリウムを介した遺伝子導入法が用いられているが、アグロバクテリウムを介した方法によるプロトコームへの遺伝子導入効率は、我々が用いている条件下では数%であり、また用いるプロトコームの状態に大きく左右される。低温プラズマを用いたタンパク質導入の効率はそれに比べて高く、プロトコームの状態に左右されなかった。現在、ゲノム編集に必要な Cas9 タンパク質（分子量 160,000）と sgRNA をプロトコーム細胞に導入する条

件検討の準備を進めている。また、GFP タンパク質が取り込まれたのはプロトコームの一部の細胞であったことなどから、プロトコーム全体、もしくは葉、茎、花、根などに分化してゆく未分化な分裂細胞にタンパク質、核酸が導入できるプラズマ照射条件の検討を今後進めていくことが必要である。

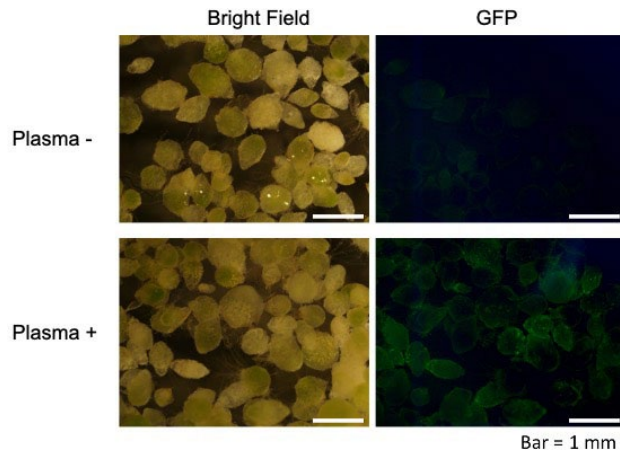


図1 低温プラズマ照射によるプロトコームへの GFP タンパク質の導入。
低温プラズマ照射によって GFP タンパク質を導入したプロトコームの顕微鏡写真。

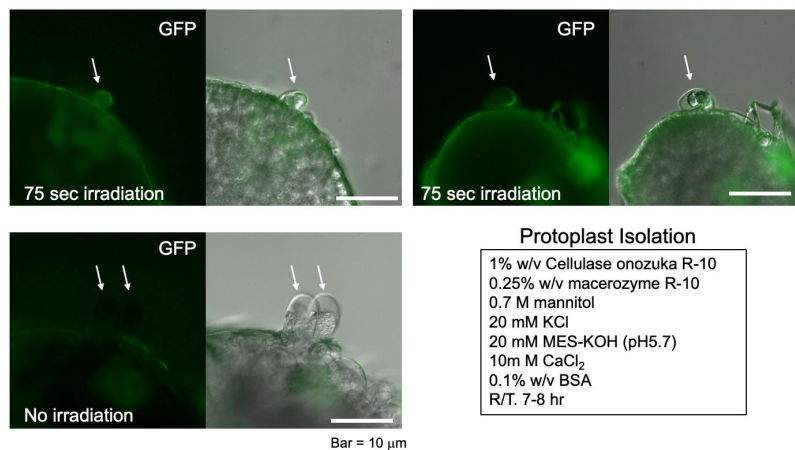


図2 低温プラズマ照射によるプロトコーム細胞内への GFP タンパク質の導入。
プロトプラスト化した細胞を矢印で示す。75 秒間ヘリウムプラズマを照射したプロトコームの細胞内部に GFP 蛍光が検出された（上段）。左下は、GFP を加えた 1/2NP 培地に浸し、低温プラズマ照射していないプロトコーム。プロトプラスト化条件を右下に示す。

【研究成果の公表状況】

<原著論文>

該当なし

<国際・国内会議>

該当なし

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）：吉野 雄太

所属機関・部局・職名：岐阜薬科大学・薬学部・助教

連絡先 住所：〒501-1196 岐阜県岐阜市大学西 1-25-4

TEL： 058-230-8100 (内線 3668)

E-Mail： yoshino-yu@gifu-pu.ac.jp

共同利用・共同研究課題	和文	表皮角化細胞間バリア機能に対する大気圧低温プラズマ照射溶液の作用		
	英文	Effect of plasma-activated solution on barrier function in keratinocyte.		
研究チーム (氏名・所属機関・部局・職名)	和文	研究代表者	吉野 雄太・岐阜薬科大学・薬学部・助教	
		研究分担者	五十里 彰・岐阜薬科大学・薬学部・副学長 兼 教授 原 宏和・岐阜薬科大学・薬学部・教授	
		センター担当教員	田中 宏昌 教授・バイオシステム科学部門	
	英文	研究代表者	Yuta Yoshino, Gifu Pharmaceutical University, Assistant professor	
		研究分担者	Akira Ikari, Gifu Pharmaceutical University, Professor / Vice President Hirokazu Hara, Gifu Pharmaceutical University, Professor	
		センター担当教員	Hiromasa Tanaka, Nagoya University, Professor	
研究実績概要 (成果等)	大気圧低温プラズマ照射培地 (PAM) を処理した表皮細胞において、CLDN1 タンパク質発現量および細胞膜における局在が減少し、タイトジャンクション形成が損なわれることで細胞間バリア機能が弱まることが示された。PAM を処理することで、表皮細胞にダメージを与えることなく、タイトジャンクションを弱めて分子を透過させることができると考えられる。今後、より詳細な分子メカニズムを解明すると同時に、低分子～中分子の医薬品化合物をはじめとした難透過性薬剤の経皮吸収促進剤への適用可能性を検証予定である。			
特筆事項 (受賞、産業財産権出願取得状況等)				

表皮角化細胞間バリア機能に対する 大気圧低温プラズマ照射溶液の作用

Effect of plasma-activated solution on barrier function in keratinocyte.

研究代表者 吉野雄太・岐阜薬科大学・薬学部・助教
研究分担者 五十里彰・岐阜薬科大学・薬学部・教授
研究分担者 原宏和・岐阜薬科大学・薬学部・教授
研究所担当教員 田中 宏昌・名古屋大学・バイオシステム科学部門・教授

1. 研究目的

皮膚には、脂質膜による角質層と細胞間接着因子による顆粒層の2種類のバリアが存在し、体内外を隔てた分子移動を制御している。顆粒層バリアの実体は表皮角化細胞間のタイトジャンクションであり、その必須構成因子クローディン-1 (CLDN1) タンパク質の発現と局在により分子透過性が厳密に制御されている。近年、我々は活性酸素・窒素種 (RONS) により CLDN1 の翻訳後修飾状態が変化し、発現量ではなく局在変化を介して表皮細胞間の分子透過性が亢進することを初めて報告した (IJMS, 2021; IJMS, 2019)。また、CLDN1 と相互作用する低分子化合物の処理によって分子透過性の一過性の亢進を見出しており、CLDN1 を標的とした皮膚透過促進剤の開発が期待される。

大気圧低温プラズマ (NTAPP) は大気環境中に存在する窒素や酸素と反応し、独特な組み合わせの RONS を生成する。NTAPP 照射溶液は抗腫瘍効果を持つ (共同研究者の原ら) だけでなく、正常組織に対しても創傷治癒促進作用、pH 適正化作用、抗菌活性など有益な皮膚生理作用が知られている。NTAPP が皮膚バリアを不安定化させ分子透過性亢進作用をもつという報告から、薬剤の経皮吸収促進に向けた技術応用が期待されるが、詳細な分子メカニズムは不明なままである。

本研究では、CLDN1 による表皮細胞間バリア機能に対する NTAPP 処理溶液の作用を解析し、低温プラズマ科学技術に基づく難透過性薬剤の経皮吸収促進剤としての技術応用の可能性を検討する。

2. 研究内容と成果

2-1. 表皮細胞に対する細胞毒性の検討

表皮細胞に対する NTAPP 照射培地 (plasma-activated medium: PAM) の詳細な作用は不明であった。検討にはヒト表皮由来 HaCaT 細胞を用いた。PAM による細胞毒性の有無を調べるため、Cell counting kit-8 (Dojindo) を用いた比色解析を行った。30%以下の濃度の PAM 処理において、細胞毒性は認められなかったため、以降の検討では PAM 30% を用いて検討を行った。

2-2. 表皮細胞の CLDN1 タンパク質発現に対する PAM の作用の解析

表皮タイトジャンクション構成因子である CLDN1 および ZO-1 のタンパク質発現量

に対する PAM の作用を検討するため、Western blot 法により解析を行った。PAM 30%処理の 24 時間後における CLDN1 タンパク質発現量が有意に減少した (図 1)。一方、ZO-1 タンパク質発現量に変化は見られなかった。加えて、タンパク質合成阻害剤を共処理したところ、PAM 処理によって CLDN1 タンパク質発現量の減少が顕著に認められたことから、タンパク質安定性を低下させることが明らかになった。

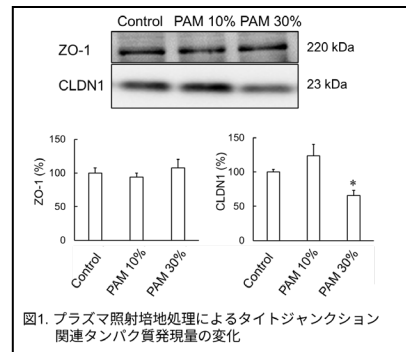


図1. プラズマ照射培地処理によるタイトジャンクション関連タンパク質発現量の変化

2-3. 表皮細胞の CLDN1 タンパク質の局在に及ぼす PAM の作用の解析

CLDN タンパク質は細胞間結合領域に存在し細胞間バリア機能を担うため、その局在が重要である。蛍光免疫染色法を用いて、PAM 処理 6 時間後における CLDN1 タンパク質の局在を観察したところ、対照 (Control) と比較して、PAM 処理細胞において、CLDN1 の細胞間における蛍光シグナルが消失した (図 2)。

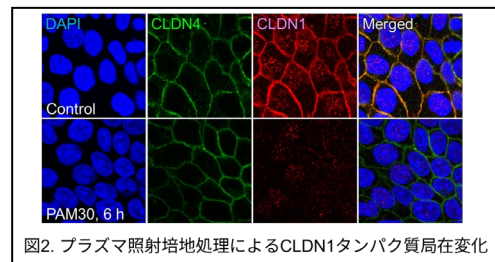


図2. プラズマ照射培地処理によるCLDN1タンパク質局在変化

CLDN4 タンパク質に変化は見られなかったことから、PAM の作用は CLDN1 特異的であると考えられる。

2-4. 表皮細胞の細胞間バリア機能に対する PAM の作用の解析

最後に、PAM 処理による細胞間バリア機能への影響について、Transwell を用いた検討により調べた。細胞間イオン透過性の指標である経表皮膜電気抵抗値 (TER) を測定したところ、PAM 30%処理 6 時間後において TER が減少した。また、水溶性蛍光低分子化合物である Lucifer yellow の細胞間透過性を調べたところ、PAM 処理によって分子透過性が増加した。

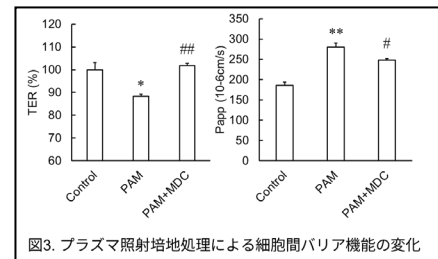


図3. プラズマ照射培地処理による細胞間バリア機能の変化

これらの結果から、PAM 処理によって細胞間バリア機能が低下することが示された。さらに、クラスリン依存性エンドサイトーシス阻害剤であるモノダンシルカダベリン (MDC) の共処理することで PAM の作用が抑制されたことから、PAM による CLDN1 タンパク質の局在変化には、クラスリン依存性エンドサイトーシスが必要であることも明らかになった。

以上の結果より、PAM を処理した表皮細胞において、CLDN1 タンパク質発現量および細胞膜における局在が減少し、タイトジャンクション形成が損なわれることで細胞間バリア機能が弱まることが示された。PAM の処理により、表皮細胞にダメージを与えることなく、タイトジャンクションを弱めて分子を透過させることができると考えられる。今後、より詳細な分子メカニズムを解明すると同時に、低分子～中分子の医薬品化合物など難透過性薬剤の経皮吸収促進剤への適用可能性を検証予定である。

2022 年度

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター共同利用・共同研究報告書

名古屋大学低温プラズマ科学研究センター長 殿

申請者（研究代表者）：吉村信次

所属機関・部局・職名：核融合科学研究所・ヘリカル研究部・准教授

連絡先 住所：〒509-5292 岐阜県土岐市下石町 322-6

TEL：0572-58-2187

E-Mail：yoshimura.shinji@nifs.ac.jp

共同利用・共同研究課題	和文	分裂酵母実験に用いるプラズマジェットの特性評価		
	英文	Characterization of a plasma jet used in fission yeast experiments		
研究チーム (氏名・所属機関・部局・職名)	和文	研究代表者	吉村信次・核融合科学研究所・ヘリカル研究部・准教授	
		研究分担者		
		センター担当教員	大野哲靖・プラズマ科学部門・教授	
	英文	研究代表者	Shinji Yoshimura, National Institute for Fusion Science, Associate Professor	
		研究分担者		
		センター担当教員	Noriyasu Ohno, Plasma science division, Professor	
研究実績概要 (成果等)	<p>モデル生物である分裂酵母を使って大気圧プラズマの生物への直接照射の影響を調べるために、分裂酵母の許容温度にガス温度を制御できるペルチェ素子付きプラズマ源を開発した。今年度は、このプラズマ源を名古屋大学低温プラズマ科学研究センターに持ち込んで真空紫外吸収分光（VUVAS）システムを共同利用することで、基底状態の O 原子の空間分布計測を行った。その結果、ノズルから 15mm の距離において最大密度 $1.7 \times 10^{13} \text{ cm}^{-3}$ に達し、その後減衰していく分布が計測された。これは先行研究と同様の傾向であった。ガス冷却の有無による変化は観測されなかった。</p>			
特筆事項 (受賞、産業財産権出願取得状況等)				

分裂酵母実験に用いるプラズマジェットの特性評価

Characterization of a plasma jet used in fission yeast experiments

吉村信次・核融合科学研究所・ヘリカル研究部・准教授

大野哲靖・名古屋大学・工学研究科・教授

1. 研究目的

プラズマバイオコンソーシアム拠点として核融合科学研究所と基礎生物学研究所との共同研究で実施している分裂酵母への常温プラズマジェットの直接照射実験において、プラズマに耐性をもつ変異体が特定され、次世代シーケンス解析によってその原因遺伝子が決定され始めている。この実験では、照射中の温度をその生物にとっての常温条件 (normothermic condition) に保つことが重要であるため[1]、プラズマジェットへの供給ヘリウムガスをペルチェ素子によって冷却しているが[2]、その特性評価は不十分であった。本共同研究では、名古屋大学低温プラズマ科学研究センター所有の真空紫外吸収分光 (VUVAS) システムを共同利用することで、基底状態の酸素原子 O (3P_j) 密度の空間分布を計測する。また、ガス冷却による分布の変化の有無についても検討する。

2. 研究内容と成果

本研究では、過去に3つの型 (NU-Global 社製幅広, 極細ジェット, 産業技術総合研究所製 DBD ジェット) の低温大気圧プラズマ源に対して実績のある名古屋大学低温プラズマ科学研究センター所有の VUVAS システム[3,4]を使用した。大気圧で動作するマイクロ放電式ホローカソードランプ (MHCL) からの紫外光は厚さ 0.5 mm の MgF_2 窓を付けた直径 10 mm (内径 6 mm) のセラミック管を通して大気中のプラズマを通過した後、対向する MgF_2 窓付きセラミック管を通して VUV 分光器の光電子増倍管で検出される。受光側の MgF_2 窓には幅 1 mm, 高さ 3 mm のスリットを取り付けて、大気による吸収の影響を除外した。基底状態の酸素原子を計測対象とするため、波長 130 nm 近傍の遷移線を使用した。吸収長はプラズマプルームの直径と同程度の 2 mm とした。

プラズマジェットの放電条件は、実際に基礎生物学研究所における分裂酵母への直接照射実験と同じ、放電電圧 $V_{p-p} \sim 6.5$ kV, ヘリウムガス流量 3.0 SCCM とした。プラズマプルームを直接照射したサーミス

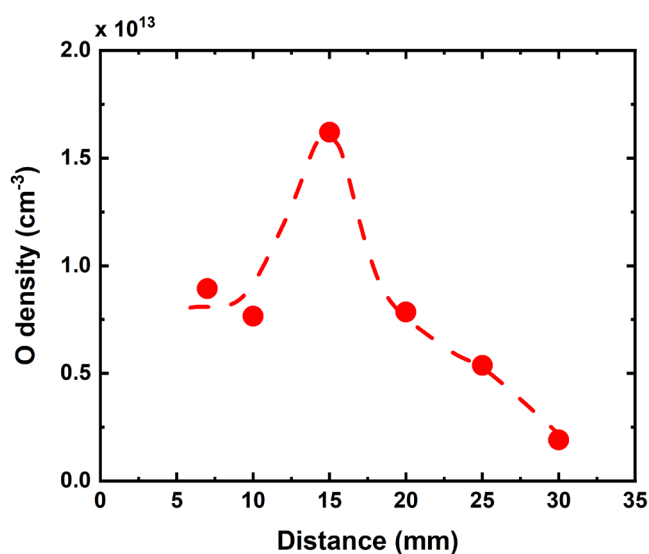


図1 酸素原子密度の空間分布。横軸はノズルから下方への距離。

タの温度が 28.5 °C となるようにペルチェ素子で供給ヘリウムガスを冷却した。

プラズマジェット装置を紫外光の光軸に対して垂直移動させて計測した結果を図 1 に示す。密度の決定には Lambert–Beer の法則を用いており、得られた線平均密度を吸収長で割ることで評価している。酸素原子密度はノズルから 15 mm において最大値を取り、その後減少していくことがわかる。同様の傾向は、参考文献[4]の Fig. 8 でもみられている。酸素原子密度の最大値は $1.7 \times 10^{13} \text{ cm}^{-3}$ であった。先行研究と比べるとやや低い値となったが、放電電圧がやや低いことがその理由であると考えられる。一方、ペルチェ素子によるヘリウムガス冷却の有無による酸素原子密度の変化は観測されなかった。ガス温度が数 10 °C 変化することは生物にとって重大な意味をもつが、分子の解離のような物理化学的過程に対しては無視できる程度であることが明らかとなった。

参考文献

- [1] S. Yoshimura, Y. Otsubo, A. Yamashita, and K. Ishikawa, Insights into normothermic treatment with direct irradiation of atmospheric pressure plasma for biological applications, *Jpn. J. Appl. Phys.* **60**, 010502 (2021).
- [2] S. Yoshimura, M. Aramaki, Y. Otsubo, A. Yamashita, and K. Koga, Controlling feeding gas temperature of plasma jet with Peltier device for experiments with fission yeast, *Jpn. J. Appl. Phys.* **58**, SEEG03 (2019).
- [3] K. Takeda, K. Ishikawa, H. Tanaka, M. Sekine, M. Hori, Spatial distributions of O, N, NO, OH and vacuum ultraviolet light along gas flow direction in an AC-excited atmospheric pressure Ar plasma jet generated in open air, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **50**, 195202 (2017).
- [4] K. Takeda, H. Yamada, K. Ishikawa, H. Sakakita, J. Kim, M. Ueda, J. Ikeda, Y. Akimoto, Y. Kataoka, N. Yokoyama, Y. Ikehara, M. Hori, Systematic diagnostics of the electrical, optical, and physicochemical characteristics of low-temperature atmospheric-pressure helium plasma sources, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **52**, 165202 (2019).

【研究成果の公表状況】

<原著論文>

該当なし

<国際・国内会議>

- S. Yoshimura, Y. Otsubo, A. Yamashita, K. Johzuka, T. Tsutsumi, K. Ishikawa, M. Hori, Development of an experimental system for cell viability assays of yeasts using gas-temperature controllable plasma jets, 11th International Conference on Reactive Plasmas / 75th Annual Gaseous Electronics Conference (ICRP-11 / GEC2022), Sendai, Japan, Oct. 3-7, 2022.