

29p-B7-3

誘電体バリア放電処理した脂質二重膜の蛍光顕微鏡観察

Fluorescence microscopy observation of lipid bilayer membrane

treated by dielectric barrier discharge

豊技大電気・電子情報¹, 豊技大 EIIRIS²○加藤 諒¹, 須田 善行¹, 田上 英人¹, 滝川 浩史¹, 手老 龍吾²Dept. of Electrical and Electronic Information Eng. ¹, EIIRIS ², Toyohashi Univ. of Technol.°Ryo Kato ¹, Yoshiyuki Suda ¹, Hideto Tanoue ¹, Hirofumi Takikawa ¹, Ryugo Tero ²

E-mail: kato@arc.ee.tut.ac.jp

1. はじめに

大気圧プラズマを医療に応用したプラズマ医療では、その非接触で治療できるという特徴を活かして、血液凝固や皮膚の消毒・殺菌などへの応用研究が進められている⁽¹⁾⁽²⁾。それと同時に、プラズマが細胞に及ぼす影響やメカニズムの基礎的な検討を行った研究も進められているが、プラズマと界面を形成する細胞表面に対するプラズマの影響を検討した研究は少ない。以上の背景から、細胞膜の主要成分である脂質二重膜に誘電体バリア放電 (DBD) 処理を施し、その挙動を詳細に観察することで、プラズマと細胞膜の相互関係を解明することを本研究の目的とした。

両親媒性分子 (親水部位と疎水部位とを有する分子) である脂質分子は水中に存在すると球状の二重膜構造 (ベシクル) を自己形成する。さらにベシクルを親水基板上に滴下すると平面脂質膜が自発的に形成される。この現象を利用した脂質二重膜形成法をベシクル融合法という⁽³⁾。この方法で形成した脂質二重膜に対して平行平板電極型 DBD 装置によるプラズマ処理を施し、蛍光顕微鏡による観察を行った。

2. 実験条件

Fig. 1 に本研究の実験系の概略図を示す。DOPC (dioleoylphosphatidylcholine) と蛍光色素ラベル脂質 (rhodamine B-dioleoylphosphatidylethanolamine, Rb-DOPE) を脂質分子として選択し、DOPC/クロロホルム溶液と Rb-DOPE の混合液 (100:1) から溶媒を除去し、脂質フィルムを作製した。ここに緩衝溶液を加えて 1 時間震盪させることで、多層ベシクル懸濁液を得た。さらに液体窒素による凍結・解凍を 5 回、ポリカーボネートフィルタを用いた extrusion (孔径 800 nm のフィルタを 5 回通した後、孔径 100 nm のフィルタを 5 回通す) を行い単層ベシクル懸濁液を調製した。濃度調節した単層ベシクル懸濁液 (ベシクル懸濁液 50 μL と緩衝液 350 μL の混合液) を用意し、緩衝液中に固定した SiO_2/Si 基板に滴下し、45°C 以上の温度で 1 時間静置した。その後、緩衝液で液相を置換し、余剰のベシクルを取り除いた。

プラズマ処理条件は供給ガス: Ar, 電極間ギャップ: 2mm, 電圧: 15kV, 電力: 300W, 周波数: 15kHz とした。DBD 型大気圧プラズマ装置はグローブボックス内に設置されており、プラズマ照射前に Ar ガスによりボックス内の雰囲気置換した。その装置の両電極は冷却水循環装置により -5°C に冷却した。

3. 実験結果

Fig. 2 に脂質二重膜の蛍光顕微鏡画像および蛍光退色回復の経時変化を示す。脂質二重膜の一部に強い励起光を照射すると、蛍光色素が退色した。液晶相にある流動的な脂質膜中では、側方拡散によって退色した Rb-DOPE と退色領域外 Rb-DOPE の交換が生じ、退色領域の蛍光が時間とともに回復する。一定時間後に退色領域の蛍光が回復していることから、連続的に均一な脂質二重膜が形成されたと判断できる。

そこで、形成した脂質二重膜に対して 1 分間 DBD 処理を行い、蛍光顕微鏡による観察を再度行った。当日の発表では、

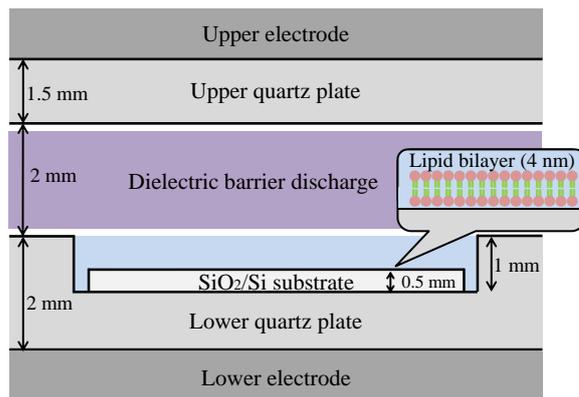


Fig.1 Schematic of experimental system

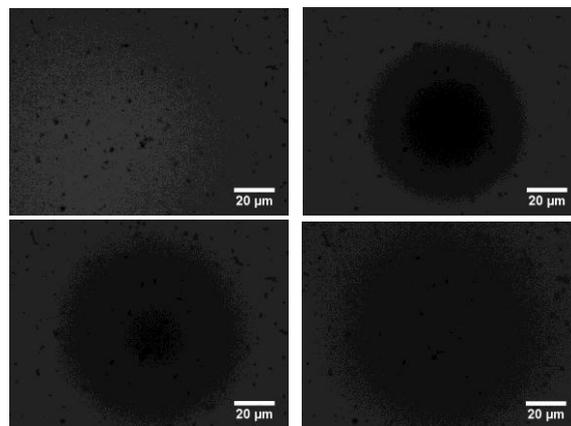


Fig. 2 Fluorescence microscope (Olympus BX51W1) images of SiO_2/Si surfaces after the incubation in DOPC (containing 1 mol% Rb-DOPE) suspension. (a) Before fluorescence bleaching. (b) 0 s, (c) 60 s, and (d) 180 s after photobleaching. Scale bars correspond to 20 μm .

プラズマ照射した脂質二重膜の蛍光顕微鏡観察および蛍光退色回復観察について説明する。

謝辞 本研究の一部は、豊橋技術科学大学ベンチャービジネスラボラトリープロジェクト, JSPS 科研費 24360108 ならびに MEXT 科研費 24110708 の支援を受けて行われた。

文献

- (1) Y. Zhao, A. Ogino, M. Nagatsu : Applied Physics Letters : 98 (2011) 191501
- (2) S. Y. Moon, D. B. Kim, B. Gweon, W. Choe, H. P. Song, C. Jo : Thin Solid Films 517 (2009) 4272
- (3) R. Tero : materials 5 (2012) 2658