質量分析法を用いた脂質膜への大気圧プラズマ照射による生成物の分析 Analysis of products by atmospheric pressure plasma irradiation to lipid bilayers by mass spectrometry

[°]大池 郁弥¹,須田 善行¹,栗田 弘史²,水野 彰²広瀬 侑²,針谷 達¹,谷本 壮¹, 滝川 浩史¹,手老 龍吾²(1.豊技大電気・電子情報,2豊技大環境・生命)

[°]Fumiya Oike¹, Yoshiyuki Suda¹, Hirofumi Kurita², Akira Mizuno², Yuu Hirose², Toru Harigai¹,

Tsuyoshi Tanimoto¹, Hirofumi Takikawa¹, Ryugo Tero² (1. Dept. of Electrical and Electronic

Information Eng., 2. Dept. of Environmental and Life Sci., Toyohashi Univ. Technol.)

E-mail: oike.fumiya@pes.ee.tut.ac.jp

1. はじめに

筆者らは誘電体バリア放電 (DBD) 照射した支持脂 質二重膜 (SLB) の挙動を調査してきた。これまでに, DBD 照射した SLB に nm~ μ m サイズの孔が空くこと、 また孔形成に先立ち SLB の流動性が低下することを 明らかにした⁽¹⁻³⁾。孔形成は ROS (reactive oxygen species)により脂質分子が酸化されることにより生じ ると考えられる⁽⁴⁾。そこで今回は,DBD 照射した DOPC (dioleoylphosphatidylcholine)ベシクル懸濁液を質量分 析することで,DBD 照射による生成物について調査し た。

2. 実験条件

DBD 装置のギャップ長は 1.5 mm とし、装置全体を グローブボックスで囲い, ガスで置換出来るようにし た。He ガスを流量 5 NL/min で 5 min 流し, 周波数 15 kHzの高周波電圧 11 kV を電極間に印加した。DBD の投入電力量は V-O リサジュー図により求めた。電 圧源は玉置電子製 TE-HFV 1530K-0400 を用いた。ベ シクル懸濁液は以下の手順で調製した。DOPC/CHCl, 溶媒をガラスバイアルの内壁に広げ、N,ガスブロー で溶媒を吹き飛ばして脂質フィルムを作成した。デシ ケーター内で6時間以上真空乾燥することにより溶 媒を完全に除去した。新たに溶媒として純水を本フィ ルムに加え45℃に温めながらボルテックスミキサー で 60 分間撹拌し, 脂質濃度 0.4 mM の多層ベシクル 懸濁液を調製した。その後、液体窒素に浸けて本懸濁 液を凍結した後,45 ℃の水浴中で解凍した。この凍 結-解凍操作を5回行った後、本懸濁液を孔径800 nm のポリカーボネートフィルターに5回, 孔径100 nm のポリカーボネートフィルターに5 回通すこと で、単層ベシクル懸濁液を調製した。質量分析にはウ オーターズ株式会社製 Alliance[@] e2695 を用いた。

3. 実験結果

Fig. 1 に, Control として DBD 照射を行っていない 0.4 mM DOPC ベシクル懸濁液の質量分析結果を示す。 m/z は質量電荷比を表し,試料に含まれる分子の分子 量に対応する値にピークが出現する。DOPC の分子量 にあたる m/z = 786 に強いピークが現れている。m/z = 808 は DOPC にナトリウムイオン (Na⁺: 22) が付着し たものと予想される。このピークは数度の再現実験に おいても検出されたため,試料作製時に Na⁺が混入し ているものと考えられる。 Fig. 2 に m/z = 800 付近の DBD 照射前後のスペクト ルを示す。新たなピークが m/z = 802 に出現した。 Control でも存在した m/z = 786 に酸素原子(O:分子 量 16) が付与した状態であると考えられる。DBD 照射 によって DOPC の酸化が起きていることが示された。 生体内での ROS による脂質の酸化は炭化水素鎖中の 二重結合部分で進むことが知られている⁽⁵⁾。Fig. 2 で観 察された酸化脂質についても同様に二重結合部分が酸 化されていると考えられる。また、窒素(N:分子量 14) に関連するピークは観察されなかった。

以上の結果より、DBD 照射を行うことで ROS により DOPC が酸化され、この酸化脂質の生成が脂質二重 膜への孔形成や流動性の低下に繋がることが分かった。



Fig. 1 Mass spectrum of DOPC vesicle suspension without DBD irradiation.



Fig. 2 Mass spectra of DOPC vesicle suspension at around m/z = 800 before and after DBD irradiation.

文献

- (1) R. Tero, et al.: Appl. Phys. Express, Vol. 7, 077001 (2014).
- (2) Y. Suda et al.: Jpn. J. Appl. Phys. Vol. 55, 03DF05 (2016).
- (3)湯佐,他, 第63回応用物理学会春季学術講演会, 21a-W621-1, (2016.3.19-22).
- (4)湯佐,他,第77回応用物理学会秋季学術講演会,15p-B7-16,(2016.9.13-16).
- (5) L. Cwiklik, P. Jungwirth: Chemical Physics Letters. Vol. 486(2010) pp.99-103