

プラズマ照射による脂質二重膜の変形と分子透過過程の検討

Study on Liposome Membrane Deformation and Permeabilization Processes Caused by Microplasma Irradiation

愛媛大院理工¹, パール工業², ワイズ³

○山本健太¹, 永岩秀憲¹, 木戸祐吾^{1,2}, 本村英樹¹, 佐藤晋^{1,3}, 神野雅文¹

Ehime Univ.¹, Pearl Kogyo Co., Ltd.², Y's Corp.³ ○Kenta Yamamoto¹, Hidenori Nagaiwa¹

Yugo Kido^{1,2}, Hideki Motomura¹, Susumu Satoh^{1,3}, Masafumi Jinno¹

E-mail: mjin@mayu.ee.ehime-u.ac.jp

1. はじめに

我々はプラズマ照射による遺伝子導入法の機序解明へ向けた取り組みを行っている[1]。遺伝子導入時の生化学的作用を排除した系として、脂質二重膜からなる閉鎖小胞体であるリポソームを用い、プラズマ照射時の脂質二重膜の変形や穿孔の可視化と、プラズマ照射時間、プラズマ照射回数との関係を検討した。

2. 実験方法

リン脂質として DOPC (dioleoyl phosphatidyl- choline) を用い、水溶性蛍光色素 (MPEG Fluorescein, 分子量 1000) を添加して、蛍光色素を内包したリポソームを静置水和法により作製した。リポソーム溶液を滴下した 3.5 cm シャーレ上方にマイクロキャピラリー電極(外径 70 μm の銅管)をギャップ長 1 mm で配置し、3.5 cm シャーレの底面にはニッケル線(外径 1 mm)を密着させて対向接地電極とした。マイクロキャピラリー電極へ振幅 15 kV (peak to peak)、周波数 20 kHz の正弦波電圧を 5-15 ms 印加してプラズマを照射した。プラズマ照射後蛍光観察を行い、脂質膜の変形を可視化し、脂質膜の変形を観察する。

3. 結果と考察

リポソーム溶液の表面における照射時間 5 ms でのプラズマ照射前のリポソームの蛍光画像を図 1(a)、プラズマ照射後リポソームの蛍光画像を図 1(b)、照射時間 15 ms でのプラズマ照射後リポソームの蛍光画像を図 1(c)に示す。以前の実験結果である同じ実験の系での、プラズマ照射回数と蛍光輝度の低下の関係のグラフを図 2、プラズマ照射時間と蛍光輝度の低下の関係のグラフを図 3 に示す。これらの結果からプラズマ照射の合計時間が同じ場合、間歇照射に比較し連続照射した場合の蛍光輝度の低下が大きい結果が得られた。また、同一リポソームをプラズマ照射前後で観察したところ、照射時間が長い場合はリポソームの変形が大きいことが確認でき、膜がプラズマ照射により大きく変形することで、脂質膜に間隙が生じることで色素が流出していることが予測された。

謝辞

本研究の一部は科研費補助金新学術領域研究 (25108509, 15H00896) の助成により行われた。

参考文献

[1] M. Jinno *et al.*: Arch. Biochem. Biophys. (2016) doi:10.1016/j.abb.2016.04.013.

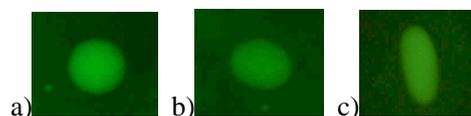


Fig. 1: Liposome (a) before and (b) after plasma irradiation (5 ms). Liposome (c) after plasma irradiation (15 ms).

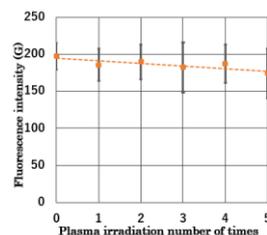


Fig. 2: Fluorescence of dye solution after plasma irradiation (Multi irradiation)

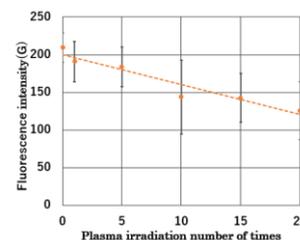


Fig. 3: Fluorescence of dye solution after plasma irradiation (Single irradiation)