

ラジカル処理液中活性種と脂質二重膜との相互作用のその場観察

In-situ observation of interaction between supported lipid bilayer and reactive species in radical-treated solution

名城大¹, 豊橋技科大², 名古屋大³

○(M1) 近藤大成¹, 手老龍吾², 橋爪博司³, 近藤博基³, 堀勝³, 伊藤昌文¹

Meijo Univ.¹, Toyohashi Univ. Tech.², Nagoya Univ.³

○Taisei Kondo¹, Ryugo Tero², Hiroshi Hashizume³, Hiroki Kondo³, Masaru Hori³, Masafumi Ito¹,

E-mail: 163433015@ccalumni.meijo-u.ac.jp

1. はじめに

細胞膜モデルとして用いられている脂質二重膜へのプラズマ中の各粒子の作用に関しては研究が行われており、電氣的に中性な粒子である酸素ラジカル照射による脂質二重膜の損傷が確認されている。^[1] 細胞膜は細胞内外での物質・エネルギーの伝搬を担う働きを持ち、細胞膜への障害は細胞や組織の活動に影響を及ぼす。

本研究では、ラジカル処理溶液による脂質分子への作用機序の調査を目的として、ラジカル照射溶液に生成される硝酸滴下時の蛍光像と脂質分子の分子拡散の変化をその場観察した。

2. 実験方法

100 mM KCl, 25mM HEPES/ NaOH pH 7.4 緩衝液中に、リン脂質(DOPC)と蛍光色素標識リン脂質(Rb-DOPE)を物質量比 100:1 で懸濁することでベシクル懸濁液を調製した。調製した懸濁液を親水性処理したガラス基板上に滴下し、45℃で2時間静置させることで平面脂質二重膜を展開させた。蛍光観察により脂質二重膜の展開を確認した後、プラズマ照射時に生成される硝酸を模擬して、硝酸を最終濃度が 0, 0.4, 4%となるように滴下し、1時間静置した。

この試料を共焦点レーザー走査型蛍光顕微鏡で蛍光観察を行うとともに、蛍光退色回復法(FRAP)により脂質分子の一部を退色させ、蛍光強度の経時変化から回復曲線を求め、脂質二重膜中の分子拡散係数を導出した。

3. 結果と考察

図 1.に各硝酸濃度における脂質二重膜の蛍光像を示す。硝酸の滴下によって、一様であった膜が 2-20 μm の分断された島状に変化した。この時の脂質分子の拡散係数が図 2.から、0, 0.4, 4%で 0.67 ± 0.29 , 0.57 ± 0.10 , 0.48 ± 0.24 $\mu\text{m}^2/\text{s}$ と導出され、拡散係数は硝酸の添加量に伴って減少した。これらの結果より、硝酸により膜内分子拡散作用は保ちつつ膜形態は変化することが示唆された。

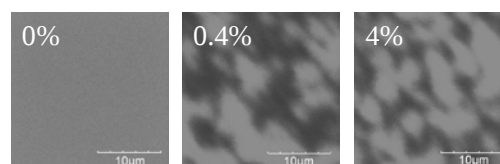


図 1.脂質二重膜の蛍光像

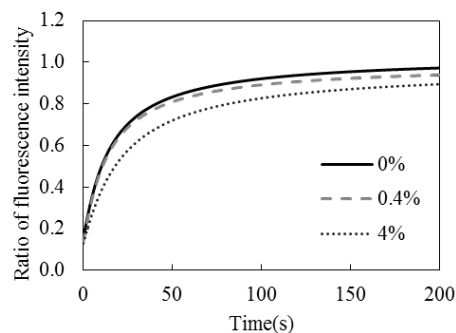


図 2.硝酸滴下時の脂質分子の蛍光回復曲線

謝辞

この研究の一部は、科学研究費補助金(課題番号 26286072)と名城大学研究センター推進事業費の支援により行われた。

参考文献

[1] R. Tero, et al., Arch. Biochem. Biophys., 605, 26 (2016) doi:10.1016/j.abb.2016.05.014.