

大気圧低温プラズマが人工脂質二重膜に与える影響について
Effects of atmospheric pressure low temperature plasma exposed to artificial lipid bilayer membrane

福田恭平, 安田八郎, 手老龍吾, 栗田弘史, 高島和則, 水野彰
 Kyohei Fukuda, Hachiro Yasuda, Ryugo Tero, Hirofumi Kurita,
 Kazunori Takashima, and Akira Mizuno

豊橋技術科学大学
 Toyohashi University of Technology

細胞に大気圧低温プラズマを直接または間接的に照射することによって、細胞増殖の促進、アポトーシス誘導、遺伝子導入、微生物の殺菌などの様々な現象を引き起こされることが知られている。このような現象を引き起こす主因は、活性種であると考えられる。活性種の多くは電荷をもっており、細胞内部に侵入する際、細胞表面に存在する細胞膜・細胞壁と衝突すると考えられる。細胞膜は、膜タンパク質や糖鎖、そして、基本骨格である脂質二重膜から構成されており、細胞内外の環境の区別や、外部からの物質の侵入を阻害するなど極めて重要な役割を有している。そのため、活性種が細胞内部に侵入する際、細胞膜と相互作用し、侵入を阻害されたり、局所的にダメージを与えたりすることが考えられる。

本研究では、プラズマによる細胞膜への影響を検証するために、GUV (giant unilamellar vesicle : 巨大単層膜ベシクル) に GFP (Green Fluorescent Protein : 緑色蛍光タンパク質) を内包させ、膜とタンパク質のみからなる非常に単純な細胞モデルを実験検体として用いた。GUV は直径が 1 μm ~100 μm の球殻状に閉じた脂質二重膜であり、様々な化学物質を内包することが可能である。GFP はプラズマにより失活して蛍光強度が低下することが分かっており、GFP を内包した GUV は細胞内のダメージを感知可能な細胞モデルと考えられる。

プラズマ源としてアルゴンプラズマジェットを使用した。まず、GUV 懸濁液に一定時間プラズマを照射し、GUV の個数から、プラズマが GUV へダメージを与えるのかを検証した (図 1)。次に、GUV 懸濁液、及び同液をボルテックスミキサー処理して GUV を機械的に破壊した懸濁液 (以下ボルテックス処理溶液と略記) を用意し、それぞれにプラズマを照射した後 GFP の蛍光強度を測定することで、脂質二重膜が GFP の失活を遅らせるのかを検証した (図 2)。

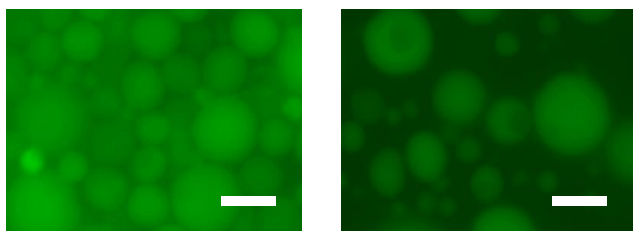


図 1: プラズマ照射前後の GUV の蛍光像
 (左: 照射前 右: 100 秒間照射) bar=20 μm

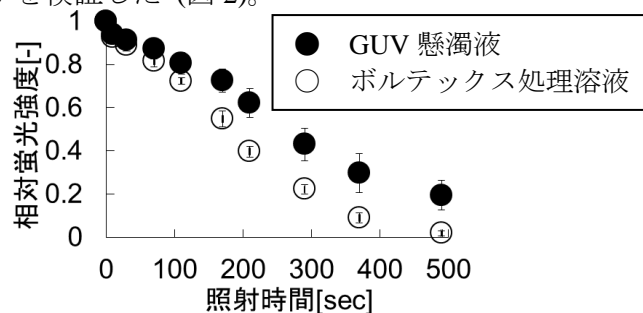


図 2: GFP の蛍光強度とプラズマ照射時間の関係

図 1 より、プラズマ照射前後で GUV の個数が減少したことから、プラズマによって GUV がダメージを受けて崩壊していることが確認された。また、図 2 より、プラズマ照射時間の増加に伴い GFP が失活して蛍光強度が低下しているが、GUV 懸濁液中の GFP の方が、失活が遅いことが確認された。この結果は、脂質二重膜が活性種等の内部への侵入を阻害し、内包した GFP の失活を遅らせたためと考えられる。以上の結果より、脂質二重膜は活性種等の細胞内部への侵入を阻害するが、ダメージも受けていることが明らかとなった。細胞膜は、活性種等の細胞内部への侵入を阻害すると考えられる。