

## ◆新素材・先端 生体膜の薬剤応答を直接観察 技術◆

生体膜は、光合成、呼吸鎖、物質輸送などの生体機能に関係しており、その動的変化の測定はこれら機能の理解と共に、生体に対する薬物の効果を知る上でも重要である。しかし、生体膜の厚さは 10 nm 程度であり、直接観察することは困難であった。本報告では、光ファイバーの原理を利用して膜の直接観察を可能にした。すなわち、光の全反射による光の浸みだしを利用することにより、モデル生体膜からの蛍光を測定することに成功し、抗菌性ペプチドによる膜破壊に伴う蛍光強度の変化を確認した。薬物の生体膜への影響を評価する強力な手段になることが期待される。

【C1003】

### 光導波路蛍光顕微鏡システムの構築とその脂質分子膜観察への応用

(群馬大院工) ○堀田弘樹・家入明子・齋藤裕紀・山田圭一・松尾一郎・吉原利忠・飛田成史・角田欣一  
[連絡先：角田欣一，電話：0277-30-1250，E-mail：tsunoda@chem-bio.gunma-u.ac.jp]

脂質分子膜は生体膜のモデル系として、光合成や呼吸鎖の機構解明をはじめ、様々な薬物の代謝など多くの生体反応の研究に利用されている。これらの反応は厚さが 10 nm 程度の非常に薄い生体膜内で起こっているとされ、その微小な領域を選択的に観察するための手法の開発が精力的に行われている。その中で我々は、スラブ光導波路を励起光源とする蛍光顕微鏡システムの構築を行ってきた。スラブ光導波路とは、カバーガラスのような屈折率の高い薄板の中に光を多重全反射によって通したもので、光ファイバーの薄板版といえる。このときガラス表面から 100 nm 程度の領域に染み出し光 (エバネッセント波) が生じ、それを光源とすることで、表面選択的、かつ表面吸着化学種に特に高感度な蛍光観察を顕微鏡下で行うことが出来る (図 1)。比較的単純な光学系で、高倍率から数 mm 程度の低倍率までの界面観察が行えるシステムが構築できた。本研究ではこの装置を脂質分子膜の観察に適用し、抗菌剤のスクリーニング法への応用を検討した。ベシクルフュージョン法によりガラス表面上に中性リン脂質である DMPC (1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) の平面膜を作製した。環境応答性を示し脂質膜内の疎水的環境で蛍光を発する NBD-C4 (7-aminobutyl-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole) をプローブとして膜内に分配させることで、脂質膜を可視化した。その脂質膜に膜作動性抗菌ペプチドであるグラミシジン S (GS) の改変体 (Tyr-GS, Ala-GS) 水溶液を送液した結果を図 2 に示す。GS を含まない緩衝液や、抗菌性試験において活性を示さない Ala-GS では蛍光強度に減少は見られないが、抗菌活性を持つ Tyr-GS では脂質膜が破壊され蛍光が大きく減少することが分かった。このように脂質膜の状態を観察できる本手法は、抗菌性物質のスクリーニング法として有用であることが示された。

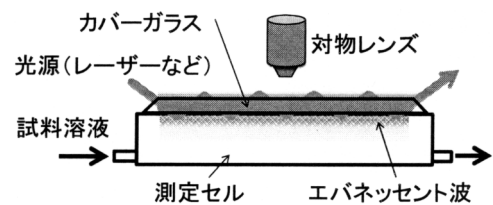


図1. スラブ光導波路を励起光源とする顕微鏡

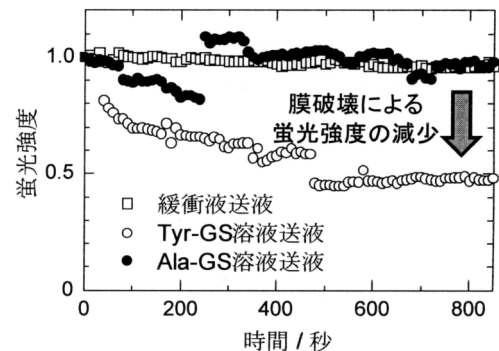


図2. 各試験溶液の送液による蛍光強度の変化