

平成 24 年度 未来研究ラボシステム 研究成果報告書

研究種目： 若手共同

研究課題名：超音波ドラッグデリバリー開発に向けた細胞膜透過性変化機構の実験的研究

ラボ長：越山顕一郎

所属：基礎工学研究科

氏名：越山顕一郎

研究成果（800 字程度、図表可）：

—正立顕微鏡下円筒水槽超音波間接照射型ソノポレーションシステムの開発—超音波装置装置内での超音波強度分布が予測でき、かつ超音波照射下での細胞外の分子が細胞内へ導入されるタイミングの計測を行うことを目的としたソノポレーションシステムの構築を行い、構築した装置を用いて *in vitro* 蛍光分子導入実験を行った際の細胞への蛍光分子が導入されるタイミングを計測した。構築したソノポレーションシステムを用いた培養細胞への蛍光分子導入実験を行うにあたり、①ハイドロホンを用いた超音波圧力振幅分布測定、②音響解析ソフト ACTRAN を用いた装置内音場の数値解析、③ディッシュ内におけるマイクロバブル脂質殻の密度分布測定、および④蛍光分子が導入された細胞数の分布の評価を実行した。その結果、数値計算から得られた超音波圧力振幅分布から、細胞への分子導入が生じる位置をある程度予測できることが検証できた。以上の検証実験を基にして、構築したソノポレーションシステムを用いて、超音波照射中の顕微鏡視野内の蛍光強度推移計測を行うことで、ソノポレーションにより細胞外の分子が細胞膜を通過するタイミングの計測を行った。その結果、本システムを用いて、超音波照射中の蛍光画像を連続的に取得することで、画像内の平均輝度値推移を評価することができることが分かった。また、画像内に存在する各細胞について、細胞領域内の輝度値の推移を評価することで、それぞれの細胞が異なる時間で蛍光を発し始めることがわかった。さらに、超音波照射によりイオンがリポソーム膜を透過する現象への、イオン電極を用いた電氣的測定方法の適用を検討した。しかしながら、超音波振動子による電場がイオン電極に影響を与えることがわかり、超音波発生装置を用いた系ではイオン電極を電氣的に遮蔽するなどの対策が必要なことが示唆された。

—学際的研究組織の構築—医学系研究科の木下助教と共に月に一回程度、互いの研究室で過去の論文の検討や実験装置の改良などを行うなどし、今後も共同研究を行うための連携を強化した。また、分子導入効率の評価に使用する非常に高価な装置であるフローサイトメトリ (FACSCalibur, Becton Dickinson) に関しては、木下助教とともに医学部施設内の装置を利用できる環境を整備した。ソノポレーションシステムにおける円筒水槽を用いた超音波照射装置とイオンの膜透過実験に用いたリポソームの作製には、基礎工学研究科の荻准教授(超音波工学)、馬越教授(化学工学)という異分野の研究者から直接アドバイスを頂いて実行し、学際的研究を行う上での研究協力基盤を強化することができた。

キーワード：

ソノポレーション、脂質膜、分子動力学、音響計算、蛍光分子導入

研究経費（H23 年度）の内訳

備品費	消耗品費	旅費	謝金	その他	合計
277,200 円	22,800 円	0 円	0 円	0 円	300,000 円

共同研究者等

(1) 共同研究者（氏名・所属）

木下学・大阪大学医学系研究科

(2) 研究協力者（氏名・所属・学年（学生の場合））

大田英明・基礎工学研究科・M2

森貴洋・基礎工学部・B4

発表論文等（平成 24 年 3 月 31 日現在）

〔学会発表〕

大田 英明，越山 顕一郎，木下 学，和田 成生，ソノポレーション機構解明に向けた超音波照射下での培養細胞への蛍光分子導入実験，生体医工学シンポジウム 2012，2012，9 月，大阪

〔その他〕

大田英明，正立顕微鏡下円筒水槽超音波間接照射型ソノポレーションシステムの開発，修士論文
森貴洋，超音波による脂質膜透過性変化機構の解明に向けたカリウムイオンの膜透過実験，特別研究論文

参考となるHP等