

リン脂質単分子膜に対する菌体の作用効果 —食中毒菌を迅速に検出する新規膜センサーの開発—

(名工大院工) ○岡部真弥・山本靖・吉野明広・多賀圭次郎
(中部大) 種田明子・篠田優・金政真

【緒言】生体膜は、細胞の内部環境を一定に保つ働きや、特定の物質の侵入を選択的に阻止するといった様々な機能を持っている。この生体膜の主要構成成分である dipalmitoyl phosphatidyl choline(DPPC) を用いた単分子膜は、その膜形成過程において「膨張—凝集相転移」という流動性の高い状態を経て膜が形成する。このような単分子膜は、微量物質の吸着といった外部刺激に対して敏感に反応すると考えられ、機能性分子を組み込む必要のない簡便な膜センサーとなる可能性がある。本研究では、DPPC 単分子膜に微量の菌体を作用させ、膜と菌体との相互作用について、表面張力測定とブリュースター角顕微鏡観察を行ない、膜センサーとしての可能性を検討することを目的とした。

【実験】膜試料には上述の DPPC を用い、膜作製のための展開溶媒には CHCl_3 を用いた。また、作用させる菌体には、生理食塩水に溶解させた様々な個数の大腸菌(*E.coli*)懸濁液($10^2 \sim 10^7$ 個/シャーレ面積)を用いた。膜と菌体との相互作用を観測するためには、下相水上で菌体を浮遊させる必要があるが、超純水または生理食塩水上では菌体が沈降してしまう可能性がある。そこで、菌体を液面上に浮遊させるための条件を調査するとともに、次の2種類の方法、実験[1]：予め菌体を滴下した液面上に DPPC 単分子膜を作製し、その膜形成過程の違いを、 π -A 曲線の変化と膜表面の形態変化として観測、実験[2]：予め作製した DPPC 単分子膜に菌体を下相水より作用させ、作用後の膜の変化を、表面圧の経時変化と膜表面の形態変化として観測、により、DPPC 単分子膜と菌体との相互作用実験を行なった。

【結果・考察】下相水の調査の結果、生理食塩水(0.9%)よりもやや高濃度の 1.5%食塩水を用いることで、水面と同様の DPPC 単分子膜が形成できるとともに、菌体が液面上に浮遊することが確かめられた。

Fig.1 は、実験[1]の条件下で行なった表面張力測定結果(π -A 曲線)である。横軸は DPPC 分子の占有面積(A)、縦軸は表面圧(π)を示している。■は食塩水上、□は大腸菌(10^7 個/シャーレ面積)存在下である。横軸を右から左に進むにつれて膜が形成される。これから、大腸菌の存在により、 π -A 曲線における初期の表面圧の上がり方に違いがみられることがわかった。Fig.2 は、実験[2]の条件下で行なった表面圧の経時変化である。横軸は時間、縦軸は表面圧(π)を示し、縦線は大腸菌(10^7 個/シャーレ面積)を添加した時刻を示している。これから、大腸菌を添加した直後から表面圧の増加が始まり、約 30 分で変化が安定することがわかった。以上の結果から、DPPC 分子と大腸菌とが相互作用していること、また、その相互作用により、DPPC 分子の凝集化が生じていることが示唆され、膜センサーとしての可能性を見出すことができた。ブリュースター角顕微鏡の結果も合わせ、詳細は当日報告する。

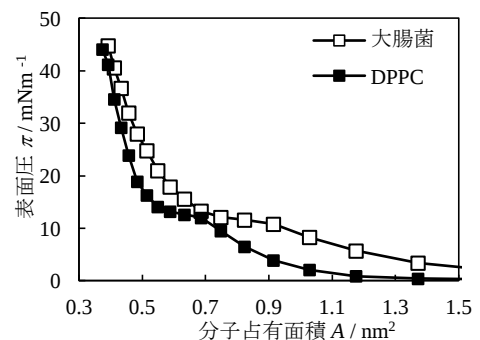


Fig.1 Change of the π -A isotherm by *E.coli*.

■: DPPC only □: in the presence of *E.coli*.

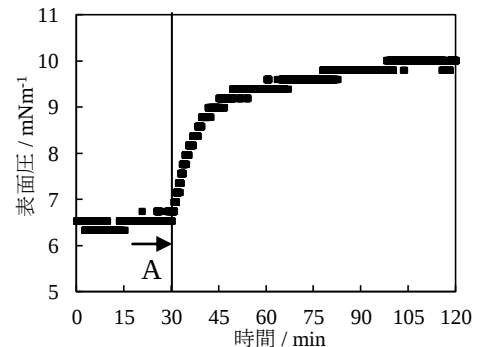


Fig.2 The time variation of the surface pressure by *E.coli*.

E.coli is added at the time A.

Action of the bacterium to phospholipid monolayer - For development of the new film sensor which detects a food poisoning microorganism-

M.OKABE, Y.YAMAMOTO, A.YOSHINO, K.TAGA, A.TANEDA, S.SHINODA, S.KANAMASA (Nagoya Inst.Tech, Chubu. Univ. ,yamamoto.yasushi@nitech.ac.jp)

The action effect of bacterium (*E.coli*) to the phospholipid monolayer has been studied by using the surface tension measurements and the Brewster angle microscope, for development of the new film sensor which detects a food poisoning micro organism. It was found that the surface tension value of monolayer and the monolayer morphology changed by the action of *E.coli*, and subsequently the monolayer condensed. The amount of change was different with kinds of phospholipid. Therefore, the structure of monolayer molecule and molecular orientation in the monolayer are an important element, for considering the interaction between monolayer and *E.coli*.