

生体膜小孔を通過する微細流れに関する研究

Study on the microscopic flow through biological membrane pore

- 小島 英之, 都立大院, 東京都八王子市南大沢 1-1, kojima-hideyuki1@c.metro-u.ac.jp
水沼 博, 首都大, 東京都八王子市南大沢 1-1, mizunuma@ecompo.metro-u.ac.jp
Hideyuki KOJIMA, Tokyo metropolitan university, 1-1 Minami-ohsawa, Hachioji-shi, Tokyo
Hiroshi MIZUNUMA, Tokyo metropolitan university, 1-1 Minami-ohsawa, Hachioji-shi, Tokyo

We used an interference microscope and a differential interference contrast microscope to observe the deformation of blood cells and the following microscopic flow. The osmotic pressure in the cell suspension was lowered to deform the cells. We chose erythrocytes and leukocytes in blood to investigate their deformation and break-up. It was found that the break-up process was different between the erythrocytes and the leukocytes. After the inner biological materials were spout through membrane in low osmotic pressure, the erythrocyte membrane still maintained the nearly original profile. On the other side, leukocyte membrane was ruptured and shrunk the scale. Micro spheres were dispensed in blood to visualize the microscopic flow. The moving of the micro spheres indicated the hemoglobin jet produced by the red cell hemolysis.

1. 緒言

近年、生体に関する研究は幅広い分野で研究されており、本研究においても生体膜とそこを通過して行われるより生体物質の交換に関する研究を流体力学的手法により行っている。

生体膜として赤血球膜は広く研究されており、Lieber⁽¹⁾らは赤血球を浸透圧の異なる溶液に入れ、膜を通過する物質の径から膜に開いた小孔の大きさを推定している。また暗視野顕微鏡でその小孔を観察している。小孔の大きさはナノオーダーからミクロンオーダーまで自由に变化できると述べている。Blackshear⁽²⁾らは膜に張力が働くとナノオーダーの小孔が生じ、張力が取り除かれるとその小孔はふさがり、しかし張力を与え続けると、小孔はミクロンオーダーに成長し、ヘモグロビンが流出し、溶血へつながると述べている。Evans⁽³⁾らは、赤血球を干渉顕微鏡で捉えている。形状が変わることによる光の干渉縞のずれから、干渉顕微鏡は赤血球の形状を正確に捉えることができるとしている。本研究では、生体膜として赤血球膜、白血球膜を対象とし、浸透圧による変形を捉えること、および赤血球、および白血球が壊れる際に小孔を通る微小な流れを捉えることを目的としている。

2. 実験装置

本研究で使用する血液は、指先から採血した人の血液である。エッペンに生理食塩水を 0.5ml 入れたあと、一滴の血液を入れた。この血球懸濁液を観察試料として用意した。この血球懸濁液に蒸留水を加え流体のモル濃度を低くすることで浸透圧をかけ、血球破壊の際に生ずる流れを微分干渉顕微鏡および干渉顕微鏡で観察する。その際、乾燥すると、赤血球が固まってしまうので、湿度を高く保つようにした。撮影は冷却 CCD カメラで行った。

3. 実験結果

3.1 赤血球

浸透圧をかけて変形した赤血球を Fig.1 に示す。微分干渉法を用い撮影を行っている。血液に蒸留水を加えてから、2 分以内に壊れることを確認した。赤血球膜は、溶血を起こしても、ばらばらになることはなく、透明になっていくのみである。この間約 20 秒である。Fig.3 に干渉顕微鏡で観察した赤血球を示す。干渉顕微鏡で観察した赤血球は、形状は捉えられたが、干渉顕微鏡は作動距離が短いため、浸透圧による膜の変形を捉えることが今回はできなかった。しかし形状の変形を捉える方法の一つとして有効であることが確かめられた。

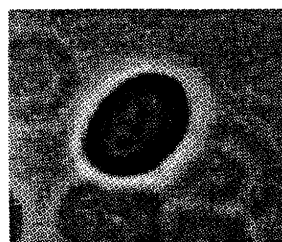
3.2 白血球

白血球の破壊過程を Fig.2 に示す。浸透圧をかけ始めてから 2

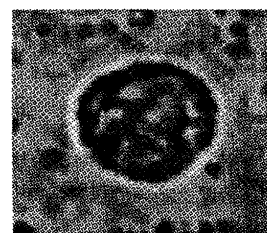
分程度で、膜に亀裂が走り、これが大きな孔へと広がり、内部の物質が放出されることが確認された。膜が壊れ、完全に解体されるのは約 3 秒間であった。

4. 結論

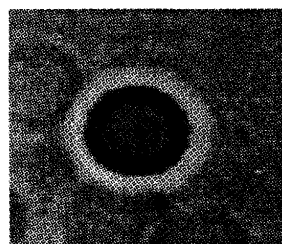
- ・ 微分干渉顕微鏡を使い、赤血球と白血球の膜の変形の違いが明らかとなった。赤血球膜は、物質が出てもそのままの形として保たれるが、白血球は内部物質が出ると収縮していく。
- ・ 干渉顕微鏡を使うことで、生体膜の形態変化を捉えられる可能性が示唆された。



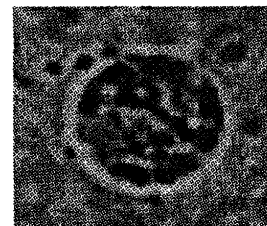
(a) Normal erythrocyte



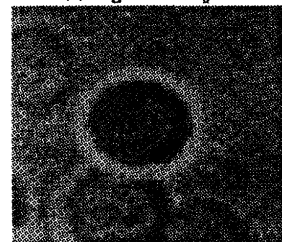
(a) Normal leukocyte



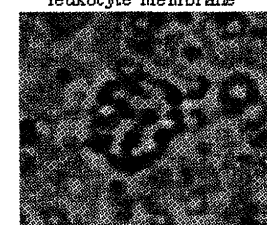
(b) Begin hemolysis



(c) The ruptured leukocyte-membrane



(c) Ghost erythrocyte



(e) Withering leukocyte-membrane

Fig.1 Collapse of erythrocyte-membrane

Fig.2 Rupture of leukocyte-membrane

5. 参考文献
省略