

HeLa 細胞における微粒子取込量と微粒子表面特性の関係

(明大理工) O加藤徳剛・小島彰

【背景と目的】マイクロサイズの微粒子をキャリアに用いた薬物送達システムにおいて、キャリア粒子をいかに細胞に取り込ませるかが課題となる。粒子表面の性質と粒径の違いが細胞内への粒子の取込量に影響を及ぼすことが報告されているが[1,2]、複雑かつ多様な取り込経路における取込量と粒子表面特性との関係は不明な点が多い。我々は非線形光学顕微鏡を用いて、高分子電解質を吸着させ、表面電荷を調節した微粒子の HeLa 細胞への取込量を評価している。特に、微粒子表面にコートさせる高分子電解質の種類や表面電位の強弱による、取込量の違いを評価することを目的とした。

【実験】HeLa 細胞は Eagle's MEM 培地で培養した。粒径が $0.2\mu\text{m}$ と $1.0\mu\text{m}$ の蛍光ポリスチレン粒子に、ポリカチオンである Poly(ethyleneimine)(PEI)、または Poly-L-Lysine(PLL) を吸着させた。培養後、培地をハanks平衡塩に代え、粒子を加えた。インキュベート後、細胞膜を光第二高調波発生(SHG)活性にする RH237 によって染色した。波長 850nm のフェムト秒レーザーを用いて、細胞膜は SHG 像、蛍光微粒子は二光子励起蛍光(TPF)像で同時観察した。

【結果】Fig.1 に PLL 被覆粒子($0.2\mu\text{m}$)を 2 時間インキュベートした後の画像を示す。細胞内に粒子があることが分かる。インキュベート時間に対する細胞内の微粒子の積算蛍光強度を Fig.2 に示す。表面電位が負の粒子の取込量が、最も低かった。両被覆微粒子の表面電位(正)は、ほぼ等しいにも関わらず、PEI よりも PLL で被覆した粒子の方が多く取り込まれた。従って、粒子表面の化学種が取込量に影響することが分かった。一方、インキュベーションが2時間を超えると、粒子が細胞外に排出される割合が多くなった。表面電荷の符号・強弱や粒径に対する取込量の違いと、エンドサイトーシスの機構との関連性について検討する。

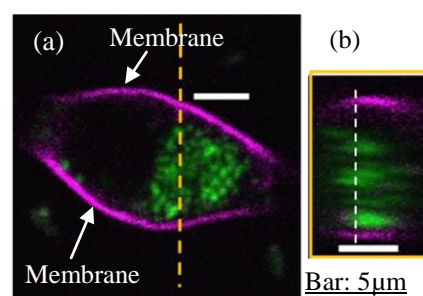


Fig.1 Images of living HeLa cell after the 2-h incubation. (a) Transverse section image. (b) Longitudinal section image along the dotted line in (a).

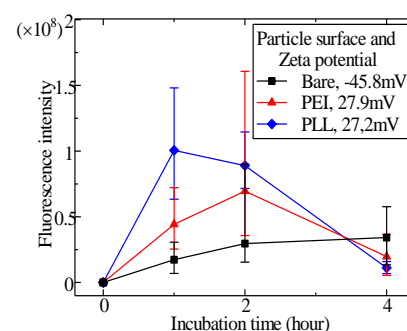


Fig.2 Uptake amount of the particles ($0.2\mu\text{m}$). The uptake amounts were qualitatively evaluated by comparing the integration of the fluorescence intensity of the particles observed inside the cell. Each plot was obtained by averaging over 20 cells.

Relationship between HeLa cell-uptake of microparticles and their surface properties

N. Kato, A. Kojima (Meiji Univ., nkato@isc.meiji.ac.jp)

Because the drug delivery system using micro-carriers is attracting attention, the interaction between the carrier particles and cells as well as the mechanism of the cellular uptake of the particles are of interest. So far, it have been reported that the surface property and the particle size affected the uptake amount [1,2]. However, the uptake process and its mechanism are not understood yet. We have observed the particles uptaken by or adsorbed on HeLa cells using the nonlinear optical microscope. We will report the dependence of the uptake amount on the size, the surface charge, and the strength of zeta-potential of the particles using the polyelectrolyte-coated particles, and discuss the relationship between our results and the endocytotic pathways of the cell.

[1] J. Dausend, et al, *Macromol. Biosci.* 8 (2008) 1135.

[2] J. Rejman, et al, *Biochem.* 377 (2004) 159.