

## カルシウムイメージングによるカチオン性リポソームと細胞の相互作用の観察

(早稲田大学<sup>1)</sup>) ○早瀬 賢吾<sup>1</sup>・堀田 盛弘<sup>1</sup>・Tianshu Li<sup>1</sup>・武岡 真司<sup>1</sup>

The observation of interaction between cationic liposomes and cells by calcium imaging  
(<sup>1</sup>Waseda University) ○Kengo Hayase,<sup>1</sup> Morihiro Hotta,<sup>1</sup> Tianshu Li,<sup>1</sup> Shinji Takeoka<sup>1</sup>

Liposomes are taken up by cells via endocytosis or membrane fusion. We reported that cationic liposomes, which are composed of lipids (K3C14 or K3C16) with only two carbon differences in fatty acid chains, are taken up by cells via different entry routes by using fluorescence labeling.<sup>1)</sup> However, there is concern that labeling lipid itself changes the physical properties of liposomes as well as interaction with cells.<sup>2)</sup> Thus, we focused on calcium response as the evaluation of non-labeled liposomes and observed the difference.

A calcium indicator (Fura2) was introduced to PMA-differentiated THP-1 cells. Then, liposomes were added to the culture medium and the intracellular calcium concentrations were observed over time. It was found that the stimulation by K3C16 liposomes induced a transient peak just after stimulation; whereas K3C14 liposomes induced intermittent peaks. Moreover, the distribution of labeled liposomes was different; most K3C16 liposomes were observed in the plasma membrane after 5 min stimulation, however, K3C14 liposomes started to be observed in the cytoplasm after 10~30 min stimulation. These results suggest that the calcium response is related to the intracellular localization of liposomes.

**Keywords :** *liposome; membrane fusion; calcium imaging; endocytosis*

リポソームの細胞に取り込まれる経路には、エンドサイトーシスと膜融合がある。当研究室では、炭素鎖の長さが 2 炭素のみ異なる 2 種類の脂質 (K3C14 または K3C16) からなるリポソームを蛍光標識し、それぞれが異なる経路で取り込まれることを明らかにした。<sup>1)</sup> しかし、蛍光標識を行うと、物性および取り込み経路が変化してしまう懸念があった。<sup>2)</sup> そこで、非ラベル化リポソームの評価方法としてカルシウム応答に着目し、カルシウムイメージングを行った。

Fura2 をカルシウム指示薬として、分化させた THP-1 細胞に導入した。その後、リポソームを添加し、細胞内カルシウム濃度を経時的に観察した。その結果、K3C16 リポソームによる刺激では、刺激直後に一過性のピークが見られたのに対し、K3C14 リポソームによる刺激では、断続的なピークが見られた。また、蛍光標識したリポソームの細胞内局在を観察したところ、K3C16 リポソームは刺激後 5 分以降で細胞膜に局在していたのに対し、K3C14 リポソームでは、刺激後 10 分~30 分に細胞質に局在していたことから、リポソームの局在とカルシウム応答が対応していることが示唆された。

1) J. He, T. Li, T. Próchnicki, G. Horvath, E. Latz, and S. Takeoka, *Biochem. Biophys. Rep.*, 2019, 18, 100623.

2) R. Kolašinac, C. Kleusch, T. Braun, R. Merkel, and A. Csiszár, *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, 19(2), 346.