

HeLa 細胞における PEG 化粒子の内在化および輸送経路の粒径依存性

Internalization and intracellular trafficking pathways of PEGylated particles

in HeLa cells and their dependence on the size



明大理工, ^{○(MIC)} 田口 海都, 長坂 玲應, 宮本 紗希, 加藤 徳剛

Meiji Univ., ^{○(MIC)} Kaito Taguchi, Leo Nagasaka, Saki Miyamoto, Noritaka Kato

E-mail: ce221048@meiji.ac.jp

背景・目的：我々は PEG 化粒子の HeLa 細胞への内在化および細胞内輸送経路を調べてきた。粒径 $1\mu\text{m}$ の場合は主にマクロピノサイトーシス (MPC)、次いでファゴサイトーシス (PGC) により内在化されるが、初期エンドソーム (EE) やリソソーム (LS) へは輸送されないことを明らかにした[1]。従って、細胞外に排出された粒子は、小胞を介さず輸送されることを示した。一方、ドラッグデリバリーシステム (DDS) において有望な粒径 100nm の PEG 化粒子は、粒径 $1\mu\text{m}$ の場合とは異なる経路で内在化と輸送が行われるとされる[2]。そこで、内在化と輸送経路の粒径依存性を明らかにすることを目的にした。また、一般的に PEG 化粒子は、細胞に取り込まれる量が少ないため、細胞膜の直接透過や MPC を促進することで知られるアルギニンを修飾した PEG 化粒子を作製し、粒子取り込み量の促進も目指した。

実験方法：疎水化した粒径 100nm の蛍光シリカ粒子を Pluronic F127 で水中に再分散させることで PEG 化ナノ粒子を作製した。マクロピノソーム (MPS)、EE、LS を蛍光染色した HeLa 細胞に、PEG 化ナノ粒子を 15 分間取り込ませ、PEG 化ナノ粒子の MPS、EE、LS への輸送の有無を評価した。また、末端の水酸基にアルギニンを修飾した Pluronic F127 を用意し、同様の手順でアルギニン修飾 PEG 化ナノ粒子を作製して、アルギニン修飾の有無で取り込み量の比較を行った。

実験結果：PEG 化ナノ粒子を HeLa 細胞に 15 分間取り込ませると、共焦点顕微鏡画像から MPC (Fig.1)、EE、LS との共局在が確認された。従って、PEG 化ナノ粒子は MPC によって内在化されることと、EE さらには LS へと輸送されることが明らかになった。以上より、細胞内輸送経路は、粒径に強く依存することが分かった。

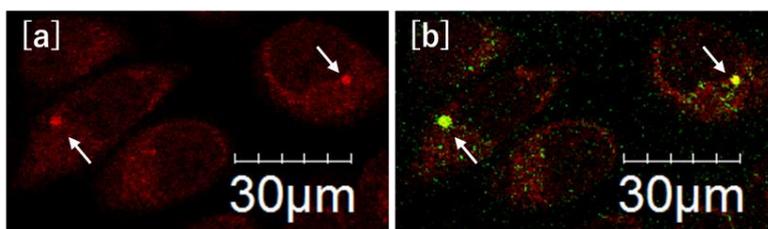


Fig. 1 Confocal fluorescence microscopy images. [a] The image indicates macropinosomes and cytosol by red. Two white arrows show the macropinosomes. [b] The image of [a] and that of the internalized particles indicated by green are merged. The particles colocalize in the red spots of the macropinosomes, indicating that the particles are internalized via macropinocytosis.

MPC 以外の内在化経路は調査中である。また、Pluronic F127 のアルギニン修飾率が低く、非修飾の場合との取り込み量に違いが見られなかったため、現在修飾率の向上を図っている。

[1] 佐藤僚太, 田口海都, 宮本紗希, 加藤徳剛, 2022 年 第 69 回応用物理学会春季学術講演会, 23a-E105-7

[2] Xin-Yuan Sun, Qiong-Zhi Gan & Jian-Ming Ouyang, Scientific Reports, 7 (2017) 41949.