

## ハイスループットDLSを用いた 細胞培養液中TiO<sub>2</sub>ナノ粒子の分散性評価

Zhaoxia Ji and Jeffrey I. Zink, UC Center for Environmental Implications of Nanotechnology and  
Department of Chemistry and Biochemistry, UCLA

ナノ粒子の毒性を正確に評価するためには、生物学的環境下でのナノ粒子サイズと分布の評価、およびそれらに影響を与えるパラメータについて理解しておくことが必須です。インビトロでの研究では、確実にナノ粒子を均等添加するためには、十分に分散させる必要があります。また同様にインビボの研究においても、ナノ粒子の毒性を正確に評価するためにはきちんと分散した形態で運搬することが必要となります。

これらの考えに基づいて、このアプリケーションノートではハイスループット動的光散乱DynaPro™ PlateReaderを用いて、異なる細胞培養液中でのTiO<sub>2</sub>ナノ粒子の分散性を正確に評価することを目的としています。ナノ粒子の分散性を向上させるために、ウシ血清アルブミン (BSA) とウシ胎児血清 (FBS) といった分散剤を検討しました。

### 試料及び手法

TiO<sub>2</sub>、BSA、FBSの濃度はそれぞれ50μg/ml、2mg/ml、0.5-5wt%としました。全測定を384ウェルのプレート中、室温で行いました。確実に再現性をとるために試料は1試料当たり各3ウェルに注入し、測定回数5回で行いました。

### 結果

DYNAMICSのSpectralViewの表示 (図1) はLBとTSBを除いた全ての培地で2mg/ml BSAが有効な分散剤であることを示しています。対照的に5wt% FBS (2mg/ml BSAと等価) は全ての培地においてTiO<sub>2</sub>をよく分散させました。FBS濃度を1wt%まで減らした時はナノ粒子の分散性に関する特に注目すべき変化は確認されず、このことはFBSが有効な分散剤であることを示唆しています。

定性的な分析に加えて、解析ソフトウェア内のレギュラリゼーションアルゴリズムを用いて粒子サイズ分布の計算も行いました。図2はLB中のTiO<sub>2</sub>の粒子サイズ分布の一例であり、ここでもFBSの有効性が改めて

確認できました。全体として、この研究はTiO<sub>2</sub>ナノ粒子のサイズを決定するのと、異なる分散試薬の影響を評価する上で、DynaPro™が従来のバッチDLSで実験するよりもはるかに速く、便利で有効な方法であることを示すことができました。現在、分散のメカニズムを理解するために多くの努力がなされています。またTiO<sub>2</sub>懸濁液の速度論及び安定性の研究も行われています。

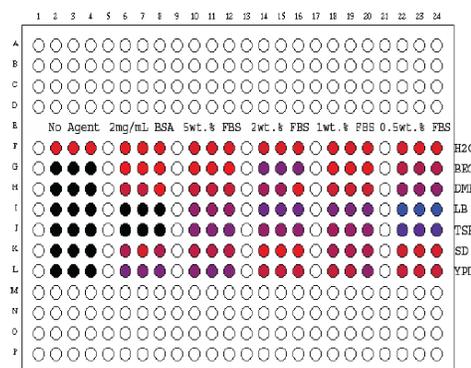


図1 水中および6つの異なる細胞培養液 (BEGM、DMEM、LB、TSB、SD、YPD) 中でのTiO<sub>2</sub>ナノ粒子の分散のSpectralView表示。分散剤のついていない全ての培地で激しく凝集していますが、2mg/ml BSAを用いたほとんどの培地では分散性が改善されました。最も分散したのは、1wt%以上のFBSを用いた時でした。

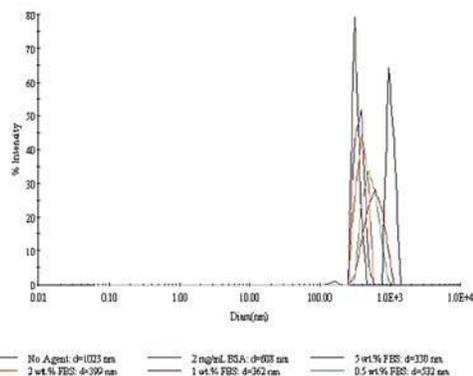


図2 解析ソフトDynamics内蔵のレギュラリゼーションアルゴリズムを用いて計算した、LB中でのTiO<sub>2</sub>の粒子サイズ分布。BSAとFBSは分散剤の効果を示している。TiO<sub>2</sub>の流体力学直径(d)は2mg/ml BSA、5wt% FBS、2wt% FBS、1wt% FBS、0.5wt% FBSでそれぞれ1023nm、608nm、330nm、399nm、362nm、532nmと定量された。

