

Исследование динамики интернализации и колокализации магнитных наночастиц с опухолевыми клетками РСЗ**Научный руководитель – Низамов Тимур Радикович*****Илясов Артём Романович****Студент (магистр)*

Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Институт новых материалов и нанотехнологий, Москва, Россия

E-mail: ilyasov.1997@inbox.ru

Мы поставили задачу исследовать «жизненный цикл» наночастицы в клетке. Для этого магнитные наночастицы типа ядро-оболочка функционализировали двумя флуоресцентными красителями $Cy3$ и $Cy5$: первый был «пришит» к оболочке из ПЭГ посредством S-S связи, второй ковалентно связывался с ядром из магнетита Fe_3O_4 .

Клетки РСЗ в количестве 300 тысяч высаживали в 30-миллиметровую чашку Петри из стекла (Biolab, Корея). Через 24 часа к ним добавляли $Cy3$, $Cy5$ -меченные магнитные наночастицы (конечная концентрация 100 мкг/мл Fe_3O_4). Далее клетки фиксировались 4 % раствором формалина на следующих временных точках: 1 ч, 4 ч, 24 ч, 48 ч, 72 ч. Визуализацию выполняли на конфокальном мультифотонном микроскопе Nikon A1R MP (Nikon, Япония; масло иммерсионный объектив x60 / 1,49). Эксперименты проводили в трех экземплярах.

Данные измерений интенсивности флуоресценции красителей $Cy3$ и $Cy5$ в клетках на разных временных точках представлены на рисунке 1. По графику видно, что флуоресцентная метка $Cy3$ со временем угасает. Метка $Cy5$, наоборот, разгорается. Эти процессы мы связываем с тем, что наночастицы, попав в клетку, под действием факторов внутренней среды клетки, таких как pH, осмотическое давление, деградируют. Они «теряют» оболочку из ПЭГ, оставшееся магнитное ядро постепенно растворяется, поскольку магнетит является биоразлагаемым. Клетки выводят из себя ПЭГ вместе с прикрепленной меткой $Cy3$ экзоцитозом, поэтому наблюдается уменьшение интенсивности данного сигнала в цитоплазме. $Cy5$ разгорается за счёт уменьшения тушения флуоресценции красителя магнитным ядром (FRET эффект). Таким образом, данные об изменении интенсивностей флуоресценции красителей могут свидетельствовать о том, что полимерная оболочка отделяется от магнитного ядра наночастиц внутри клеток.

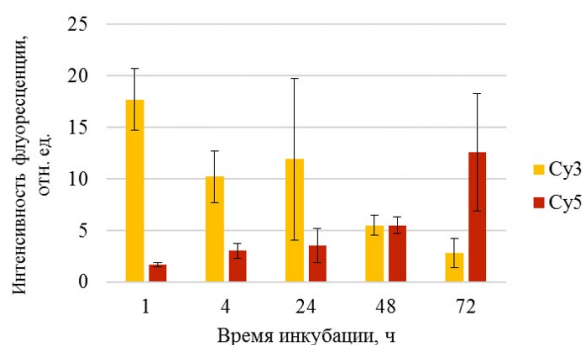
Иллюстрации

Рис. 1. Интенсивность флуоресценции красителей $Cy3$ и $Cy5$ в клетках в зависимости от времени инкубации