

## CF3と動的光散乱による医薬品用ナノ粒子の特性評価

### 一般情報

ID0038

アプリケーション：医薬、ドラッグデリバリー

テクノロジー：CF3-DLS

機器構成：CF2000、Malvern Zetasizer Nano ZSP

キーワード：遠心 FFF、動的光散乱 DLS、バイオ医薬、ナノ粒子、細胞培地

### はじめに

バイオ医療用途のドラッグデリバリーシステム(DDS)として生分解性ナノ粒子(NP)は血流中での安定性と放出制御により、非常に興味深いものとなってきました。このアプリケーションでは、ポリマーベースの非細胞毒性NP、特に200 nm PLGA NPが、粒子の製剤のサイズと整合性により評価されました。PLGAは、生分解性、生体適合性、放出制御性、および米国食品医薬品局(FDA)の承認により選択されました。細胞培養液中でのDDSのサイズと安定性を遠心フィールドフローフラクショネーション(CF3)に動的光散乱検出器(DLS)を接続して評価しました。この機器構成により、生理学的条件が厳密に模倣され、サンプルの前処理を大幅に抑制することができ、実際のアプリケーション条件下でDDSの動作に対する評価をすることができます[1]。



図1：CF2000の機器構成：CF3（左上）

Malvern Zetasizer Nano ZSP（下）、および遠心 FFF の原理（右上）

### 細胞培養培地のCF3-DLS測定

検討を始める前にCF3-DLSの設定を変更し、細胞培地（RPMI 1640）での測定中にシステムの微生物汚染を防止しました。特に、システムを徹底的に洗浄した後、抗生物質を細胞培地に添加し、溶離液を5～7 °Cに冷却しました。これらの方法により、システムの完全性は少なくとも44時間保証されます。その後、それぞれの細胞培地溶液に規定量のPLGA NPを添加することによって、生理学的条件を模倣して37 °Cでインキュベーションを行いました。PLGA NPのサイズとインキュベーション時間の関係性に対する細胞培地成分の影響を調査するために、CF3-DLSによって評価しました。経時変化分析（インキュベーションの開始直後、1時間、4時間、20時間）により、インキュベーション時間にわたる細胞培地内のPLGA NPサイズ変化のモニタリングが可能になりました。RPMI 1640（青）

および10%ウシ胎児血清（FCS）を添加したRPMI 1640(緑)のそれぞれのインキュベーション経時変化で得られたCF3-DLSフラクトグラムの重ね書きを図2および図3に示します。

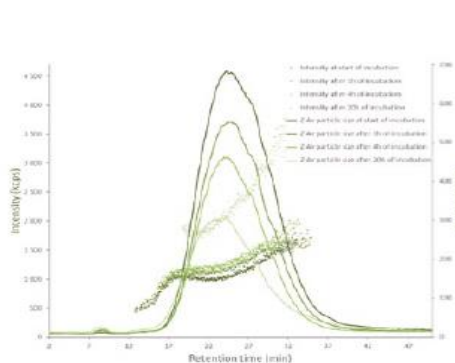


図 2：RPMI 1640の異なるインキュベーション時間後の200 nm PLGA NPのCF3-DLSフラクトグラム。

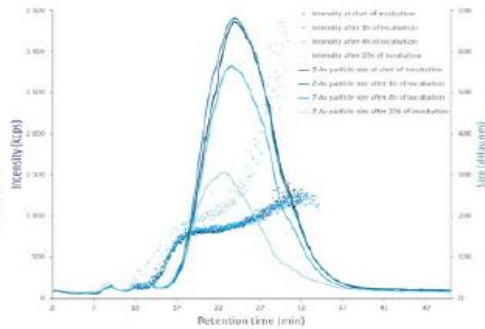


図 3：10%FCSを添加したRPMI 1640の異なるインキュベーション時間後の200 nm PLGA NPのCF3-DLSフラクトグラム

### 結果と考察

測定結果よりインキュベーションの最初の1時間は実質的に一定であるが、PLGA NPのサイズは、インキュベーション時間が長くなると大幅に増加することが明らかとなりました。さらにNPサイズの増加は、10%FCSの有無の両方でRPMI 1640で観察されましたが、10%FCSを添加した培地の絶対サイズの増加は著しく高くなっています（表1）。この発見はPLGA NP表面へのFCSコンポーネントの添加が凝集に関連している可能性があります。同様に長時間のインキュベーション後に測定されたDLS信号強度の減少によって観察される全体的な粒子数の同時減少は、それぞれの細胞培地でのPLGA NPの凝集による沈降の証拠となっています。

Incubation Time [h]	Diameter [nm]	
	Pure Cell Medium	Cell Medium incl. 10 % FCS
0	181 ± 24	189 ± 49
1	180 ± 24	190 ± 45
4	186 ± 26	190 ± 39
20	207 ± 33	325 ± 256

表 1：CF3-DLS分析から得られた200 nm PLGA NPの10%FCS有/無のRPMI 1640のインキュベーション後の粒子サイズの変化

### まとめ

動的光散乱と遠心FFFの接続は細胞培地などの複雑なマトリックスにおいても、粒子サイズの調査に理想的なツールであることが証明されました。CF3-DLSは長時間にわたる細胞培地内のPLGA NPの粒子サイズ変化のモニタリングが可能です。したがってCF3-DLSは、ドラッグデリバリーシステム(DDS)への適用に向けたPLGA NPの生体適合性に関する重要な情報を得ることができます。このテクノロジーはバッチDLSなどの他の粒子サイジングテクノロジーで行えない様な生理的条件下でのNPに関する詳細な評価が可能です。

### 参考文献

[1] Kohl Y., Spek S., Halley F., Spallek M. J. et al., Nanosafety Conference 2013, Biopolymer Nanoparticles for Therapeutic Applications: Synthesis, Characterization and Assessment of Biocompatibility.