

令和 2 年 7 月 11 日現在

機関番号：32682

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K01399

研究課題名(和文) 微粒子が細胞膜に与える影響と微粒子の細胞内移行の関係

研究課題名(英文) Influence on the plasma membrane induced by microparticles and its relation to the cellular internalization of microparticles

研究代表者

加藤 徳剛 (KATO, Noritaka)

明治大学・理工学部・専任教授

研究者番号：90329110

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：HeLa細胞を用いて、粒径1 μm の粒子の内在化経路を明らかにした。主な経路は、粒子の表面状態で異なり、PEG化粒子は、マクロピノサイトーシス(MPC)により、表面電荷が正のカチオン性粒子は、細胞膜を貫通することにより細胞内移行した。カチオン性粒子を内在化した細胞の細胞膜が損傷していたので、カチオン性粒子は細胞膜を静電吸着したまま細胞内移行することが示唆された。膜を損傷しないPEG化粒子は内在化効率が悪いが、粒径を小さくすると、効率改善が見込まれた。そして、MPCを利用した細胞内送達の可能性を示した。さらに、多光子励起顕微鏡を用いることで、従来よりも高感度な膜損傷試験が可能であることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

粒子の内在化経路の解明は、ドラッグキャリアを用いた薬物送達システムの開発に貢献できる。PEG化粒子の多くが腫瘍細胞に特徴的なマクロピノサイトーシスにより取り込まれることが明らかになったため、腫瘍細胞への薬物送達システムの開発に貢献できる。また、粒子の表面状態で細胞毒性が異なることを明らかにしたので、低毒性のドラッグキャリアの設計の指針を与える。さらに、従来法では検出できない僅かな細胞膜の乱れを検出する方法を開発したので、これまで見過ごされてきた膜損傷機構や修復機構などを発見できる可能性を秘めており、本研究で得られた成果は、薬物送達システムへの応用だけでなく、基礎生命科学への貢献も可能である。

研究成果の概要(英文)：HeLa cells were used to clarify the internalization pathway of particles with a diameter of 1 μm . The major pathway depended on the surface chemistry of the particle. The PEGylated particles were internalized via macropinocytosis (MPC), and the cationic particles with the positively-charged surface penetrated through the plasma membrane. Since the damage of the plasma membrane was observed after the internalization of the cationic particles, the plasma membrane was suggested to adhere to the cationic particles electrostatically and be cut off upon their entry to the cell. The PEGylated particles that do not damage the membrane have poor internalization efficiency, but it is expected that the efficiency will be improved by decreasing the particle size. Thus, we showed the possibility of intracellular delivery using MPC. Furthermore, we showed that a multi-photon excitation microscope can be used to perform a more sensitive detection of the cell-membrane damage than the current way.

研究分野：材料物性

キーワード：細胞膜 生体材料 多光子励起顕微鏡 微粒子 薬物送達システム エンドサイトーシス

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

遺伝子治療のような新しい医薬・治療法では、核酸医薬の細胞内送達、薬効や治療効果の向上に必須であるため、目的の細胞内へ医薬を送達する DDS が求められている。特に、微小なドラッグキャリアを用いた DDS が注目されている。キャリアには、薬物を内包・隔離して、薬物の分解・劣化を防ぎ、目的の細胞の内部へ指向する機能も有することが求められる。我々もドラッグキャリアの開発を行ってきた[①-④]。また、微粒子が細胞に取り込まれる機構の解明と、その細胞内送達への応用に多くの努力が払われている[⑤]。

これまでに、蛍光微粒子の HeLa 細胞への内在化量や、その粒径依存性などを、多光子励起顕微鏡で評価してきた。細胞膜を両親媒性極性色素で染色することで光第 2 高調波発生 (SHG) 活性になる。そこで、細胞膜は SHG 像で、粒子は 2 光子励起蛍光 (TPF) 像で、同時観察した。すると、粒径 $1\mu\text{m}$ の粒子でも、細胞内に移行した。表面電位が負の粒子よりも正の粒子の方が、細胞あたりの吸着量、内在化された粒子数ともに多かったが、細胞膜の損傷が強いように見えた。このとき、損傷した細胞膜の SHG 強度が、損傷していない膜よりも低いことを見出した。

また、毒性の低いポリエチレングリコール (PEG) で修飾した粒子も細胞内移行した。粒径 $1\mu\text{m}$ の粒子の内在化は、 $5\mu\text{m}$ 以上の小胞体を形成するマクロピノサイトーシス (MPC) による内在化が有力である。

2. 研究の目的

両親媒性極性色素が、方向を揃えて細胞膜に挿入されることで、細胞膜が SHG 活性になる。このことから、細胞膜の脂質分子が乱れると、色素の配向も同時に乱れ、対称性が上がるため、SHG 強度が低下したと考えた。そこで、多光子励起蛍光顕微鏡を用いて、細胞膜の損傷を高感度に検出する方法を開発することとした。そして、粒子が細胞膜を損傷する原因や機構について、多光子励起蛍光顕微鏡により細胞を観察するだけでなく、ジャイアントユニラメラベシクル (GUV) と微粒子との物理的な相互作用も調査することで、解明することを目的とした。また、PEG 化粒子やカチオン性粒子の内在化経路を解明して、MPC を利用した細胞内送達の可能性について検討することも目的とした。

3. 研究の方法

(1) 本研究で使用した細胞は、子宮頸癌に由来する HeLa 細胞である。CO₂ 濃度 5%、37°C の環境下で HeLa 細胞を継代した。培地は、ウシ胎児血清 (FBS) および L-グルタミンを添加したイーグル最小必須培地 (EMEM) を使用した。

(2) 多光子励起顕微鏡として、オリンパス製の FV1000MPE を用いた。パルス幅 100fs、波長 850nm の Ti-Sapphire レーザを励起光源とした、レーザ走査型顕微鏡である。TPF は落射光学系、SHG は透過光学系により検出した。細胞膜を SHG 活性にする色素として、RH237 (Molecular Probes) を用いた。417-437nm の狭帯域バンドパスフィルタを用いて SHG 信号を取り出した。TPF 信号は蛍光材料に応じたバンドパスフィルタを用いて検出した。水浸用 25 倍の対物レンズ (オリンパス製、XLPLN25XWMP, N. A. =1.05) を用いた。細胞に与える粒子として、ポリカチオンを被覆した粒径 $1\mu\text{m}$ の蛍光ポリスチレン粒子を用意した。EMEM 中で培養した細胞を、粒子を添加したハンクス平衡塩液 (HBSS) 中で、1 時間または 2 時間培養した。その後、HBSS で 2 回リンスして、RH237 ($10\mu\text{M}$) を含む HBSS に交換して、20 分間培養して染色した。その後、HBSS で 2 回リンスして、HBSS 中で SHG 像と TPF 像の 3 次元断層像を撮像して、粒子の内在化の様子を観察した[⑥]。

細胞膜の損傷評価をするため、EMEM 中で培養した細胞を、PEI などの高分子を添加した HBSS 中で、1 時間培養した。その後、同じ条件で RH237 染色を行ったあと、HBSS 中で SHG 像と TPF 像の 3 次元断層像を撮像した。この断層像から、SHG および TPF の積分強度 (I_{SHG} 、 I_{TPF}) を算出して、 $I_{\text{SHG}}/I_{\text{TPF}}$ の値を比較した[⑦]。

(3) 文献⑧と⑨を参考に、粒径 $1\mu\text{m}$ と 150nm の蛍光シリカ粒子を合成した。得られた粒子の電位は負なので、ポリカチオンであるポリエチレンジアミン (PEI) を静電吸着させて、カチオン性粒子を得た。また、シリカ粒子表面を Hexamethyldisilazane で疎水化したのちに、Pluronic F127 とともに、水中に分散させることで、粒子表面の PEG 化を行った。カチオン性の粒子および PEG 化粒子の超純水中での電位は、それぞれ +58mV と -20mV であった。

(4) 共焦点レーザ走査型蛍光顕微鏡 (オリンパス、FV1000MPE) により、粒子内在化経路の調査を行った。油浸用 60 倍の対物レンズ (オリンパス製、UPLSAP060X0, N. A. =1.35) を用いた。EMEM (FBS 不含) 中で、30 分間平衡化したのち、蛍光シリカ粒子および Rhodamine B で標識した Dextran (RhB-Dex) を添加した EMEM (FBS 不含) 中で、15 分間培養することで、粒子の内在化を行った。粒子の濃度は 3.5×10^7 個/mL とした。RhB-Dex は、マクロピノソーム (MPS) を染色するために使用した。15 分間の培養ののち、HBSS で 2 回リンスして、細胞外の粒子と RhB-Dex を除去して、HBSS 中で撮像した。各種エンドサイトーシス阻害剤は、平衡化培地および粒子入り培地に添加した。阻害剤には、5-(N-Ethyl-N-isopropyl)amiloride (EIPA)、Cytochalasin D (CytD)、Filipin III (FlpIII)、Dynasore (Dyn) を用い、それぞれ 0.1mM、 $1\mu\text{M}$ 、 $7.64\mu\text{M}$ 、 $80\mu\text{M}$ の濃度で培地に添加した。細胞の活動を停止させて観察する際は、平衡化前から細胞を 5°C に冷やして、

平衡化および粒子取り込みも 5°C で行い、観察直前まで 5°C に保った。RhB-Dex は 559nm、蛍光シリカ粒子は 405nm の CW レーザで励起して観察した。このように各種条件を変えて取得した、3次元断層蛍光像から、粒子を内在化した細胞の割合 (F_{in}) を算出した。

(5) 正味マイナスの電荷をもつ細胞膜を模倣するため、卵黄由来のフォスファチジルコリンとフォスファチジルグリセロールを混合させてベシクルを作製した。蛍光観察用に、ニトロベンゾオキサジアゾールで蛍光標識したリン脂質 (NB-DPPE) を少量混合して、水和法により、5mM トリス緩衝液 (NaCl 150mM 含) 中に GUV を作製した。GUV 内には 0.1mM の Acid Red を内包させた。得られた GUV の ζ 電位は -42mV であり、直径 3 μ m 以上の GUV の内、単層のものは 60% 強であった。文献⑧を参考にして合成した粒径 830nm のシリカ粒子 (アニオン性粒子)、およびそれを PEI で被覆したカチオン性粒子を、GUV 分散液に添加し、ピペッティングによる攪拌の後、GUV をレリーフ顕微鏡および共焦点レーザー走査型蛍光顕微鏡で観察した。

4. 研究成果

(1) PEI の他にポリアリルアミン (PAH) や、カチオン性の生体高分子であるポリ L リジン (PLL) とポリ L アルギニン (PLA) で被覆した粒径 1 μ m の粒子の内在化の様子を、多光子顕微鏡により観察した。図 1a は、最も細胞内移行した PLA 被覆粒子の様子を示す。図の緑は粒子からの TPF 信号と示し、紫は細胞膜からの SHG 信号に対応する。多くの粒子が細胞内に移行している様子が分かる。図 1b に示すように、細胞当たりの内在化粒子の数は、被覆したポリカチオンの種類に依存し、図 1c のように、粒子の ζ 電位の値と、内在化粒子の数に相関があった。このため、正味負の電荷を持つ細胞膜との静電相互作用が、カチオン性粒子の内在化数を決める主たる要因であることが分かった [⑥]。また、細胞内移行した粒子が多い細胞ほど、細胞膜からの SHG 強度が低い傾向が観察された。

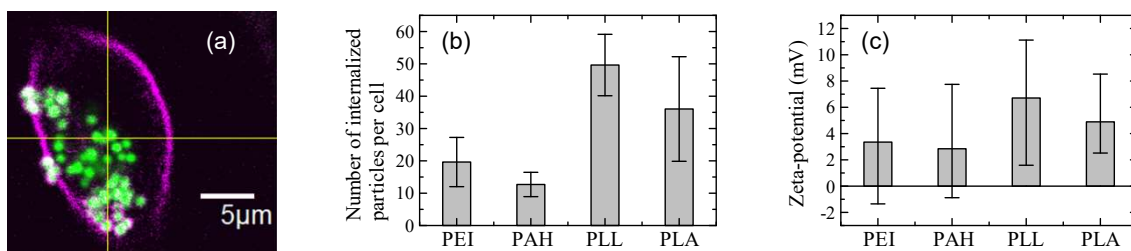


図 1 (a) PLA 被覆粒子に 2 時間さらした HeLa 細胞の断面画像。(b) 細胞当たりの細胞内移行した粒子数の被覆材依存性。エラーバーは 95% 信頼区間を示す。(c) 被覆粒子の ζ 電位の被覆材依存性。エラーバーは最大値と最小値を示す。

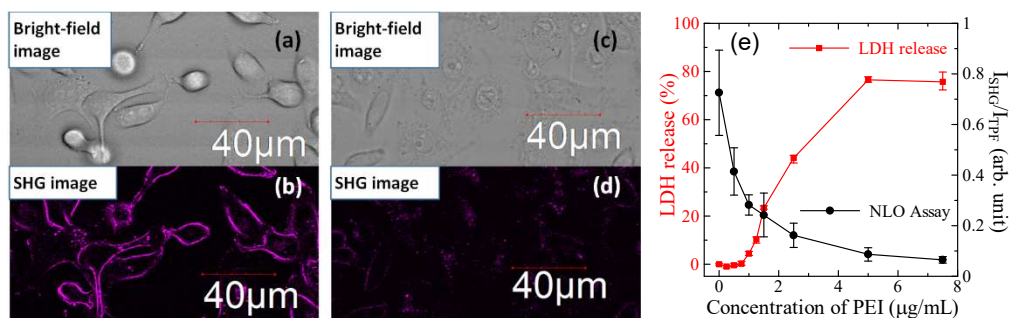


図 2 PEI 不含培地で培養した HeLa 細胞の (a) 明視野像と (b) SHG 像。PEI 含有培地 (7.5 μ g/mL) 培養した HeLa 細胞の (c) 明視野像と (d) SHG 像。(e) PEI の濃度に対する I_{SHG}/I_{TPF} と乳酸脱水素酵素 (LHD) 漏出率の比較。

そこで、RH237 で染色した細胞膜からの SHG 強度で、細胞膜の損傷が評価できることを、確認するため、細胞膜を損傷する代表的なポリカチオンである PEI を種々の濃度で細胞に暴露し、細胞を観察した。図 2 に、PEI 不含 HBSS と PEI 含有 HBSS 中で培養した細胞の観察結果を示す。図 2a, b と図 2c, d を比較すると、PEI により明視野像からも細胞の損傷が確認できるほど損傷を与えると (図 2c)、SHG 強度が低下していることが分かる (図 2d)。RH237 の染色度合いが、観測ごとに変化してしまうため、それを補償するため、SHG 強度を TPF 強度で規格化した I_{SHG}/I_{TPF} の値で、細胞膜の損傷を評価した。PEI の濃度に対する I_{SHG}/I_{TPF} の依存性を観察して、従来の乳酸脱水素酵素 (LHD) 漏出アッセイと比較した。図 2e に示すように、LDH アッセイで膜損傷を検出できない低濃度領域 (<1 μ g/mL) において、 I_{SHG}/I_{TPF} の値が減少していることから、提案した方法の方が、高感度で膜構造の乱れを検出できることが明らかになった [⑦]。一方、毒性の低いポリ [N-(2-ヒドロキシプロピル)メタクリルアミド] を添加した HBSS においては、純粋な HBSS で培養したとき

の I_{SHG}/I_{TPF} の値とほぼ等しく、細胞膜を損傷しないことも確認された。PEI の他に PAH、PLL、PLA などのポリカチオンも程度の差こそあれ、 I_{SHG}/I_{TPF} の値が低下したため、細胞膜の構造を乱していることが分かった。この方法により、これまで見過ごされてきた細胞膜の乱れを検出することで、新たな細胞の性質や、物質と細胞膜との相互作用に関する知見がえられることが期待される。

(2) GUV 分散液に、アニオン性またはカチオン性粒子(粒径 830nm, 非蛍光性)を混合して、混合前後の GUV の数密度の変化と、GUV の色素内包率の変化を顕微鏡で調べ、負のと電位を示す脂質二重膜と粒子と静電的相互作用に関連した、膜損傷についての知見を得た。GUV に静電吸着しないアニオン性粒子を混合しても、GUV が破壊され数密度が減少したので(図 3a)、粒子との混合による機械的な衝撃で破壊されることが分かった。カチオン性粒子の場合は、アニオン性粒子と比べより数密度が大きく減少したため、静電吸着により GUV の破壊が促進された(図 3a)。

色素内包率の変化を見ると、アニオン性粒子混合後は変化がなく、カチオン性粒子混合後は減少したので、カチオン性粒子には、GUV を破壊せずに、内包物だけを放出する作用があることが判明した(図 3b)。カチオン性粒子を吸着した GUV が多く観察されたことから(図 3c)、脂質二重膜に静電吸着するだけで、内包物が漏出するような膜損傷を与えることが分かった。また図 3d では、表面にリン脂質を吸着したカチオン性粒子も多く観察されたため、カチオン性粒子は GUV の脂質二重膜を部分的に千切り取って、GUV を破壊することが示唆された。以上の結果から、DDS において効率よくドラッグキャリアを細胞内移行させるには、ドラッグキャリアを細胞膜表面に吸着させると有利だが、吸着しても細胞膜に損傷を与えないドラッグキャリアの設計が必要であることが分かった。

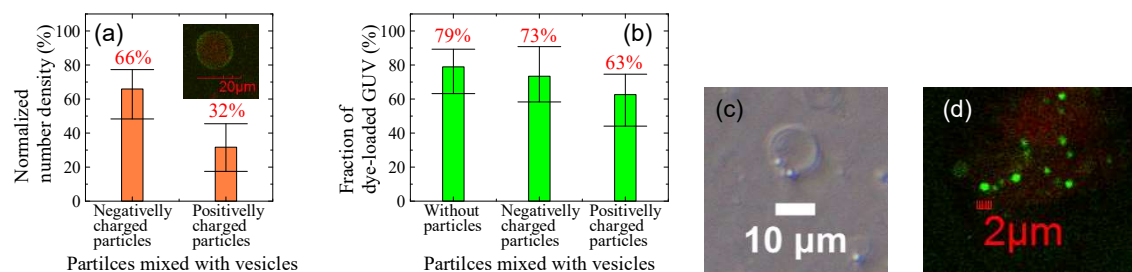


図 3 (a)アニオン性粒子とカチオン性粒子を混合した後の GUV の数密度。混合前の数密度で規格化した。典型的な GUV の蛍光像。緑が NB-DPPE の蛍光で脂質二重膜を示し、赤は内包した Acid red の蛍光を示す。(b)粒子を混合しない場合と、アニオン性粒子またはカチオン性粒子を混合した後の色素が内包されている GUV の割合。(c)表面にカチオン性粒子を吸着した GUV を示すリーフ顕微鏡像。(d)リン脂質を吸着したカチオン性粒子(粒径 830nm)の蛍光像。緑は NB-DPPE の蛍光シグナルを示す。

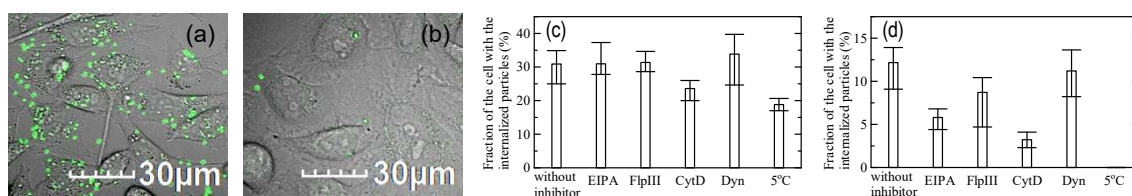


図 4 粒径 $1\mu\text{m}$ の (a)カチオン性粒子と (b)PEG 化粒子を与え、HBSS でリンス後の細胞の様子。明視野像と蛍光像を重ねた像であり、緑は粒子を示している。(c)カチオン性粒子を内在化した細胞の割合 (F_{in}) と (d)PEG 化粒子を内在化した細胞の割合 (F_{in})。阻害剤を与えなかった場合と、各種阻害剤を与えた場合と、 5°C に冷却した場合で F_{in} を比較している。

(3) 粒径 $1\mu\text{m}$ のカチオン性粒子と PEG 化粒子の細胞への内在化経路を解明した。粒子を内在化した細胞の割合 (F_{in}) の算出にあたり、1 個の粒子を内在化した細胞も、複数粒子を内在化した細胞も、1 個の粒子内在化細胞として集計した。図 4ab に示すように、それぞれ同じ数密度の粒子を細胞に与えたが、PEG 化粒子よりもカチオン性粒子の方が、細胞表面に吸着した粒子と細胞内移行した粒子が多く、かつ細胞あたりの内在化粒子数も多い。PEG 化粒子のと電位が低くかつ負なので、細胞膜との相互作用が弱いため、吸着粒子数も内在化粒子数も少ない。相互作用の強弱が F_{in} の値にも違いをもたらし、阻害剤を与えず観察した場合も、カチオン性粒子の場合約 30% だったのが、PEG 化粒子の場合は約 12% であった。

カチオン性粒子の場合(図 4c)、何も阻害させない場合の F_{in} の値から、 F_{in} が有意に低下したのは、CytD を与えた場合と、 5°C に冷却した場合であった。 5°C に冷却して細胞の活動を止めても、カチオン性粒子を内在化した細胞が多く観測されたことから、カチオン性粒子は主に細胞膜を貫通して内在化する経路(エネルギー非依存の経路)で、細胞内移行することが分かった。CytD は MPC とファゴサイトーシス(PGC)を阻害する。一方、EIPA は MPC だけを阻害するが、EIPA では F_{in} を低下させなかったため、PGC がカチオン性粒子の細胞内移行に寄与していることが判断された。HeLa 細胞は免疫細胞ではないが、異物が吸着することにより自衛のため PGC が誘導され

たものとする[10]。この様に、カチオン性粒子の細胞内移行は、細胞にとって、甚大なストレスを与えることが明らかになった。

PEG 化粒子の場合(図 4d)、5°Cに冷却したら、粒子を内在化した細胞が全く観察されず、カチオン性粒子とは異なり、細胞膜を貫通して細胞内移行することはないことが分かり、PEG 化により細胞毒性が著しく低下したことが分かる。次に、 F_{in} の値を有意に低下したのは、EIPA と CytD を与えた場合であり、EIPA よりも CytD の方が有意に F_{in} の値を低下させた。従って、PEG 化粒子は、主に MPC により内在化され、次いで PGC でも内在化されることは分かった。PEG 化粒子は、細胞膜を貫通して細胞内移行することはないものの、HeLa 細胞に PGC に誘導させてしまったため、細胞へのストレスは完全に除かれてはいないと判断した。PGC の誘導と、粒子表面の PEG 鎖の密度の関係など今後の検討事項である。

カチオン性粒子においても PEG 化粒子においても、FlpIII と Dyn を与えても F_{in} の低下が観察されなかったため、クラスリン依存性エンドサイトーシスもカベオラ依存性エンドサイトーシスもダイナミン依存性エンドサイトーシスも、内在化に寄与していないことが分かった。この理由は、これらのエンドサイトーシスにより形成される小胞体が $1\mu\text{m}$ よりも小さいとされているからである[5]。

PEG 化粒子は毒性が低いものの、図 4b のように細胞内移行の効率が良くない。そこで、同じ数密度の粒径 150nm の PEG 化粒子を、細胞に与えたところ、 F_{in} がやや増加した。また、粒子を細胞に与えても MPS を有する細胞の割合も増加し、MPS 内に粒子が内包されている様子も粒径 $1\mu\text{m}$ の PEG 化粒子よりも多く観察された。PEG 化粒子の粒径を小さくすることで、細胞内移行の効率を向上できる可能性が示唆された。

このように、PEG 化粒子は MPC 経路で細胞内移行するドラッグキャリアになり得ることを明らかにした。リガンドを用いたクラスリンやカベオラ依存性のエンドサイトーシスによる細胞内送達の研究が多い中、MPC も細胞内送達に利用可能であることを示せたことは、DDS 開発において有益である。細胞標的化のためにドラッグキャリア表面にリガンドを用いる研究が盛んだが、静脈などの体内に投与されると、様々タンパク質がドラッグキャリア表面に吸着して、タンパク質コロナを形成し、リガンドを不活性化して、望んだ標的化を妨げてしまう課題がある。MPC では、大量の細胞外液を細胞内に取り込むので、ドラッグキャリアを受容体に結合させる必要はなく、ドラッグキャリアが細胞膜付近にあれば、取り込まれる。また、腫瘍細胞では MPC が異常に活発化している。そこで、リガンドは用いずに、PEG 化などで血中滞留時間を長くとり、EPR 効果による腫瘍組織への能動的な標的化を行い、その後 MPC により腫瘍細胞がドラッグキャリアを取り込むシステムの可能性について、検討していく。PEG 化だけでなく、MPC を促進することも指摘されている PLA の利用も視野に入れ、MPC 経路での細胞内送達システムの可能性を探り、DDS 開発に貢献する。

<引用文献>

- ① N. Kato, T. Ishii, S. Komoto, *Langmuir* 26 (2010) 14334.
- ② Y. Yamaguchi, N. Kato, *TechConnect World 2014 Proceedings*, in: *Nanotechnology 2014*, Vol. 2, CRC Press, Florida, 2014, pp.315-318.
- ③ N. Kato, N. Kato, *Micropor. Mesopor. Mater.* 219 (2016) 230.
- ④ H. Saito, N. Kato, *Jpn. J. Appl. Phys.* 55 (2016) 03DF06.
- ⑤ N.D. Donahue, H. Acar, S. Wilhelma, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 143 (2019) 68.
- ⑥ N. Kato, R. Kondo, *Jpn. J. Appl. Phys.* 57 (2018) 03EK03.
- ⑦ N. Kato, *Biophys. Rev.* 11 (2019) 399.
- ⑧ H. Nishimori, M. Tatsumisago, T. Minami, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 9 (1997) 25.
- ⑨ J. Zhu, L. Liao, L. Zhu, P. Zhang, K. Guo, J. Kong, B. Liu, *Talanta* 107 (2013) 408.
- ⑩ M. Kobayashi, T. Hoshino, *Arch. Histol. Jap.* 46 (1983) 479.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kato Noritaka	4. 巻 未定
2. 論文標題 Optical second harmonic generation microscopy: application to the sensitive detection of cell membrane damage	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biophysical Reviews	6. 最初と最後の頁 未定
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12551-019-00546-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Noritaka Kato, Ryosuke Kondo	4. 巻 57
2. 論文標題 Cellular internalization of polycation-coated microparticles and its dependence on their zeta-potential.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 03EK03
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.7567/JJAP.57.03EK03	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Y. Kamimura, N. Kato	4. 巻 98
2. 論文標題 DNA multilayer film for loading and release of DNA oligomer	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 MATEC Web of Conferences	6. 最初と最後の頁 2001
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1051/mateconf/20179802001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 S. Yoshikawa, N. Kato, G. Obara	4. 巻 98
2. 論文標題 Mesoporous silica hollow capsules embedded with magnetic	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 MATEC Web of Conferences	6. 最初と最後の頁 5001
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1051/mateconf/20179805001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

[学会発表] 計21件(うち招待講演 0件/うち国際学会 12件)

1. 発表者名 Noritaka Kato
2. 発表標題 Nonlinear Optical Assay for Sensitive Detection of Cell Membrane Damage
3. 学会等名 Asian Biophysics Association Symposium in conjunction with the Australian Society for Biophysics (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤徳剛, 近藤良亮
2. 発表標題 Cellular internalization of micro-particles and its dependence on their surface properties
3. 学会等名 9th International Conference on Molecular Electronics and Bioelectronics (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 加藤徳剛, 岸田健太郎, 加藤治基
2. 発表標題 Surface pressure-induced alpha-beta transition of amphiphilic peptides in the lipid monolayer
3. 学会等名 15th European Conference on Organized Films (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉武駿平, 三橋拓真, 加藤徳剛
2. 発表標題 Internalization pathways of particles in HeLa cells
3. 学会等名 15th European Conference on Organized Films (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 近藤良亮, 大堀裕平, 加藤徳剛
2. 発表標題 Non-linear optical imaging for evaluating the cell membrane damage
3. 学会等名 15th European Conference on Organized Films (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 加藤徳剛, 近藤良亮, 大堀裕平
2. 発表標題 Assessment of Cell Membrane Damage via Second Harmonic Generation Microscopy
3. 学会等名 IUMRS-ICAM2017 (The 15th International Conference on Advanced Materials) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉川祥吾, 山口優, 加藤徳剛
2. 発表標題 Sustained release from mesoporous silica hollow capsules
3. 学会等名 IUMRS-ICAM2017 (The 15th International Conference on Advanced Materials) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上村悠実, 吉川祥吾, 小池郁裕, 加藤徳剛
2. 発表標題 多孔質シリカ中空カプセル内における高分子電解質の重合とゲル化
3. 学会等名 第78回 応用物理学会 秋季学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉武駿平, 原野貴大, 加藤徳剛
2. 発表標題 細胞への1 μ m 粒子の内在化経路の内訳
3. 学会等名 第78回 応用物理学会 秋季学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 近藤良亮, 曾我晴伸, 加藤徳剛
2. 発表標題 非線形光学顕微鏡による細胞膜損傷評価の再現性向上
3. 学会等名 第65回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉武駿平, 三橋拓真, 加藤徳剛
2. 発表標題 細胞への微粒子内在化の粒径依存性と経時観察
3. 学会等名 第64回 応用物理学会 春季
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 近藤良亮, 大堀裕平, 加藤徳剛
2. 発表標題 SHG顕微鏡による細胞膜損傷の評価と既存の毒性試験との相関SHG顕微鏡による細胞膜損傷の評価と既存の毒性試験との相関
3. 学会等名 第64回 応用物理学会 春季
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉武駿平, 三橋拓真, 加藤徳剛
2. 発表標題 マクロビノサイトーシスによる微粒子の内在化
3. 学会等名 第77回 応用物理学会 秋季
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 吉川祥吾, 加藤徳剛, 小原学
2. 発表標題 鋳型法による多孔質シリカ中空カプセルへの磁気ナノ粒子の導入
3. 学会等名 第77回 応用物理学会 秋季
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 加藤徳剛, 鈴木悠甫
2. 発表標題 脂質ベシクルと微粒子の静電相互作用
3. 学会等名 第77回 応用物理学会 秋季
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 吉川祥吾, 加藤徳剛, 小原学
2. 発表標題 Mesoporous silica hollow capsules embedded with magnetic nanoparticles
3. 学会等名 16th International Conference on Organized Molecular Films (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 吉武駿平, 近藤良亮, 加藤徳剛
2. 発表標題 Internalization mechanism of microparticles in HeLa cells
3. 学会等名 16th International Conference on Organized Molecular Films (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 加藤徳剛, 岸田健太郎
2. 発表標題 Surface pressure-induced alpha-beta transition of amphiphilic peptides in a lipid monolayer
3. 学会等名 16th International Conference on Organized Molecular Films (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 上村悠実, 加藤徳剛
2. 発表標題 DNA multilayer film for loading and release of DNA oligomers
3. 学会等名 16th International Conference on Organized Molecular Films (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Noritaka Kato, Md. Arifur Rahim, Frank Caruso
2. 発表標題 Nanoparticles composed of tannic acid and metal ion network
3. 学会等名 Okinawa Colloids 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤僚太, 加藤徳剛
2. 発表標題 HeLa細胞におけるマイクロ粒の内在化経路
3. 学会等名 第81回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----