

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ЛИПОСОМ МЕТОДОМ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Агина К.В., Столяров Г.С., Замышляев П.С.

*Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева
Медицинский институт, Лаборатория фармакокинетики
и таргетной фармакотерапии, Саранск*

Продemonстрирована возможность визуализации липосом методом сканирующей зондовой микроскопии. Полученные изображения выявили существенную вариабельность размеров липосом, что предполагает их слияние в процессе фиксации к носителю. Параллельное изучение дисперсных свойств суспензии методом динамического светорассеяния подтвердили данное предположение. Требуется совершенствование техники фиксации липосом к носителю, предупреждающее их слияние

Ключевые слова: липосомы, сканирующая зондовая микроскопия, динамическое рассеяние света.

При разработке технологий синтеза липосомальных препаратов закономерно возникает необходимость поиска приемлемых методов визуализации данных структур. В последние годы большую популярность в исследованиях подобного рода получили различные технологии сканирующих зондов на базе методов растровой электронной микроскопии. Сканирующая зондовая микроскопия (СЗМ) позволяет эффектно строить трехмерные изображения — от атомов до микронных образований, которые достаточно легко интерпретировать [1].

Цель работы: изучить возможность визуализации наноразмерных липосомальных структур методом сканирующей зондовой микроскопии.

Материал и методы. Немодифицированные липосомы готовились методом обращения фаз из смеси сухих фосфолипидов (ФХ) и холестерина (Х) (Sigma, США) в соотношении 10 : 1. Унификация липосом достигалась 10-кратной экструзией через поликарбонатные фильтры (Avestin, Канада) диаметром 50 нм на мембранном шприцевом экструдере (Lipex, Канада). Дисперсные свойства среды изучались методом динамического светорассеяния (Photocor FC). Фиксация липосом для СЗМ проводилась по методике S. Singh [2], где в качестве основания использовалась слюда

V.P. Torchilin [3]. Отмывку основания проводили по методу Jana Jass [4]. Визуализация гемосом проводилась посредством сканирующей зондовой микроскопии (SPM 9600 SHIMADZU, Япония).

Результаты. Получены сканы двух, приготовленных из одной суспензии, образцов липосом (рис. 1а). Компьютерная обработка позволяет получить довольно эффектные трехмерные изображения, дающие более наглядное представление о форме изучаемых объектов (рис. 1б). Однако, несмотря на хорошую четкость, привлекает внимание выраженный полиморфизм полученных изображений липосом как по форме (округлые, овальные), так и по размерам. Если различие формы в разных образцах позволяет предположить существенную вариабельность данного параметра от довольно сложной техники фиксации, то различие в размерах может быть обусловлено и технологическим несовершенством на этапе синтеза липосом. Дисперсионные свойства той же среды, изученные методом фотонной корреляционной спектроскопии (рис. 2) исключают данное предположение. Вариабельность размеров, выявленная сканированием, позволяет утверждать, что в процессе фиксации к носителю, происходит слияние части липосом с образованием более крупных везикул.

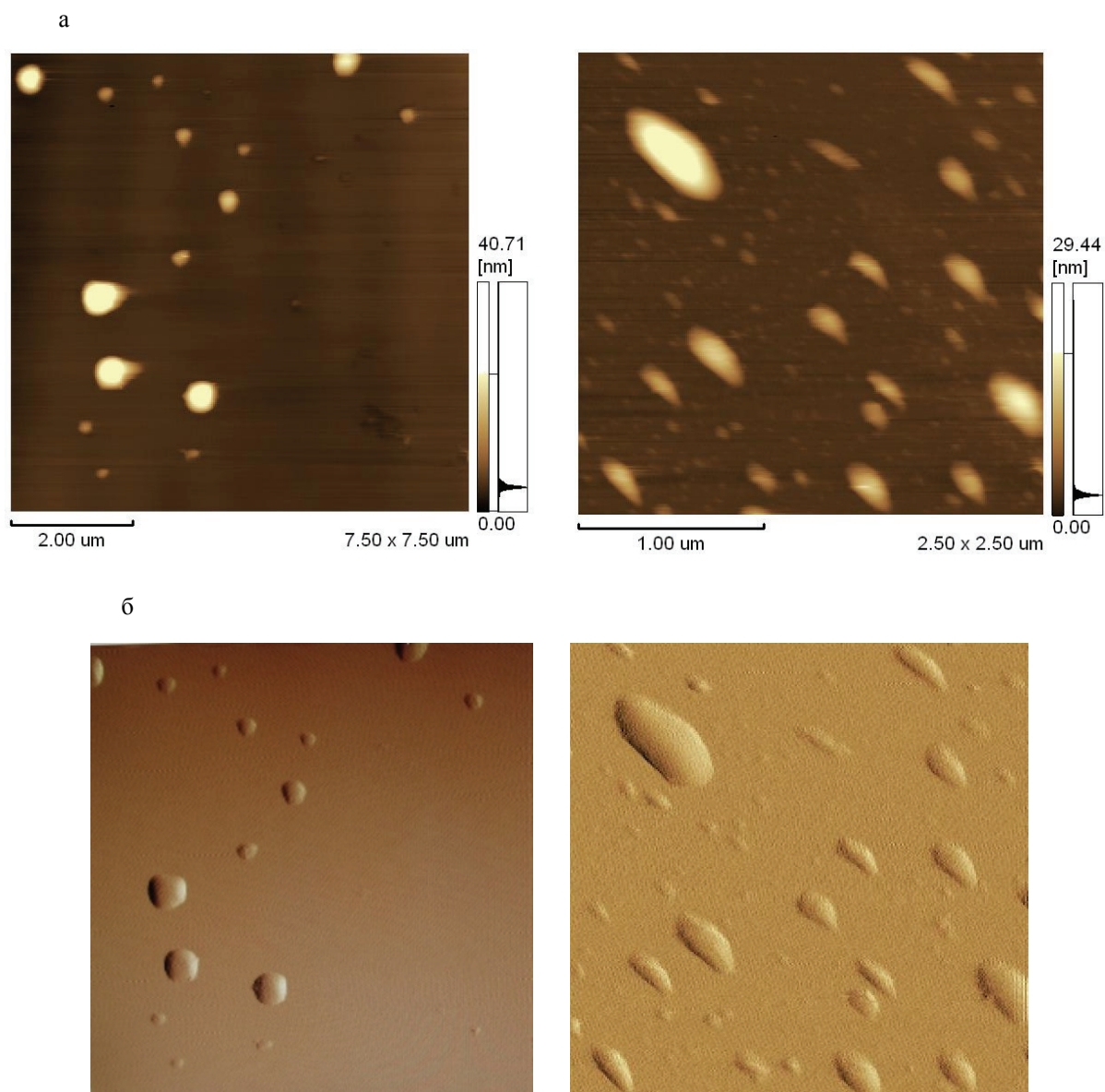
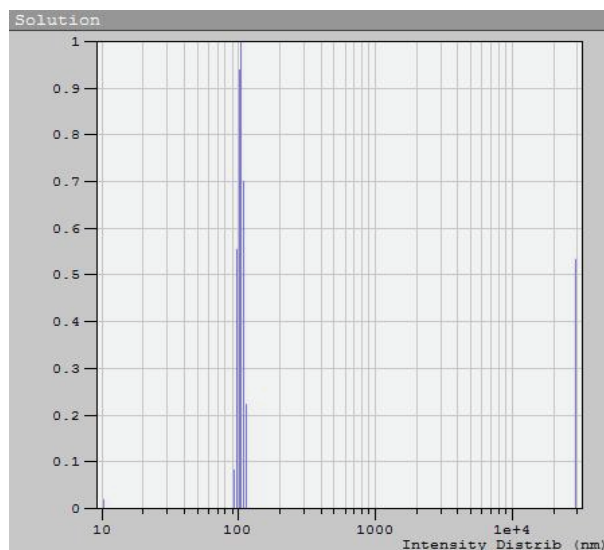


Рис. 1. Двух- (а) и трехмерные (б) изображения липосом, полученные методом СЗМ



Area –1,000
 Mean –20,38
 Position –20,15
 STD –1,220

Рис. 2. Измерение дисперсности суспензии липосом (Fotocor-FC)

Выводы. 1. Метод СЗМ применим для изучения структуры липосом. 2. Требуется совершенствование методики фиксации липосом к носителю, исключающее их слияние.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сканирующие зондовые микроскопы (обзор) / Суслов А.А., Чижик С.А. // Материалы, технологии, инструменты. 1997. Т. 2. № 3. С. 78—89.

2. From liposomes to supported, planar bilayer structures on hydrophilic and hydrophobic surfaces: an atomic force microscopy study / Singh S., Keller D.J. // Biophys Journal. 1991. Dec; P. 1401—1410.

3. Liposomes a Practical Approach, Second Edition / Torchilin V.P., Weissig V. // Oxford University Press. 2003. P. 267—288.

4. Atomic Force Microscopy Imaging of Liposomes / Jana Jass, Torbjorn Tjarnhage, Gertrud Puu // Methods in enzymology. 2003. V. 14. P. 367.

VISUALIZATION OF LIPOSOMES BY MEANS OF SCANNING PROBE MICROSCOPY METHOD

K.V. Agina, G.S. Stolyarov, P.S. Zamyshliaev

*Ogarev Mordovia State University
 Institute of Medicine, Laboratory of Pharmacokinetics
 and Targeted Drug Delivery, Saransk*

The possibility of visualization of liposomes by scanning probe microscopy method was demonstrated. The resulting images showed a significant variation in size of liposomes, suggesting that they merge during the fixation process to media. The parallel study of disperse properties of the suspension by dynamic light scattering confirmed this assumption. Some improvement of the fixation technique of liposomes to the media is required to prevent their merging.

Key words: liposomes, scanning probe microscopy, dynamic light scattering.