

# 硅壳纳米颗粒对 COS-7 细胞的生物效应

刘芳, 何晓晓, 王柯敏, 葛佳, 谭蔚泓

(湖南大学化学生物传感与计量学国家重点实验室, 湖南大学生物医学工程中心,  
湖南大学生命科学与技术研究院, 生物纳米与分子工程湖南省重点实验室, 长沙 410082)

**摘要** 从硅壳纳米颗粒对细胞存活率、细胞周期及细胞生长曲线的影响等方面系统地考察了包裹 RuBpy 染料的硅壳荧光纳米颗粒(FSiNPs)对美洲绿猴肾细胞(COS-7)的生物效应。结果表明, FSiNPs 对 COS-7 细胞的影响是浓度依赖性的, 低浓度( $<0.2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ )的 FSiNPs 对细胞的存活率、细胞周期及整个生长过程均无负面影响, 但随着与 COS-7 细胞作用的 FSiNPs 浓度的增大, FSiNPs 对 COS-7 细胞的毒性也逐渐增大, 尤其是对细胞周期及细胞生长曲线的影响更为敏感。同时, 利用 FSiNPs 的荧光信号同步指示作用, 考察了 COS-7 细胞对 FSiNPs 的吞噬作用, 发现 FSiNPs 通过细胞膜的吞噬作用随机地进入到细胞内, 一部分 FSiNPs 被细胞当成异物外排到细胞培养基中, 另一部分则进入到下一代细胞中。随着细胞传代次数的增多和新生胞质的产生, FSiNPs 在细胞内的含量逐渐减少, 最后消失。在这一过程中, 细胞的形态和生长状况依然良好。上述研究结果有望为 FSiNPs 在细胞生物学的研究和应用提供一定的安全标准, 并为开展基于新型纳米颗粒的纳米颗粒器件的研究与应用打下了基础。

**关键词** 硅壳纳米颗粒(SiNPs); COS-7 细胞; 生物效应

**中图分类号** O657      **文献标识码** A      **文章编号** 0251-0790(2007)10-1857-06

纳米科学技术的飞速发展为人们的生产 and 生活方式带来了新的契机<sup>[1~3]</sup>。然而, 在人们逐渐利用纳米科学技术的优点服务于科研与社会的同时, 纳米材料显示出的一些特殊生物效应以及对人体健康的潜在影响也逐渐受到关注和重视<sup>[4,5]</sup>。2003年4月, Science 首先发表文章讨论纳米材料与生物环境相互作用可能产生的生物安全问题<sup>[6]</sup>, 随后, Nature<sup>[7]</sup>、Environmental Science & Technology<sup>[8,9]</sup> 以及欧洲许多学术杂志<sup>[10~12]</sup> 也纷纷发表文章来探讨纳米生物的安全性。目前的研究对象主要集中于碳纳米材料、磁颗粒、固体脂质体纳米颗粒以及半导体量子点等纳米材料的生物效应方面, 例如, Lam 等<sup>[11]</sup> 开展了单壁碳纳米管肺部毒性研究, Kirchner 等<sup>[12]</sup> 开展了量子点的细胞毒性研究, 刘岚等<sup>[13]</sup> 研究了四氧化三铁纳米颗粒和谷氨酸包覆的四氧化三铁纳米颗粒的毒性及致突变性, Jean-Paul 等<sup>[14]</sup> 比较研究了不同聚合物合成的纳米颗粒在静脉给药后对小鼠的毒性等。

作为重要的纳米材料之一的硅壳纳米颗粒, 由于具有低聚合性、表面易修饰性以及易重复合成等优点, 在生物标记与识别、生物分离、基因转染和药物传输等<sup>[15~17]</sup> 领域都得到了较大发展。此外, 关于 SiNPs 的生物效应研究也引起了重视, 例如, 朱诗国等<sup>[18]</sup> 开展了多聚赖氨酸-SiNPs 与体内外周血浆蛋白以及外周血红细胞的生物亲和性研究; 本研究小组从硅壳纳米颗粒对人类健康的影响角度出发, 考察了不同功能化基团修饰的硅纳米颗粒与人皮肤表皮细胞的生物效应<sup>[19]</sup>。为进一步评价硅纳米颗粒是否适于生物医学研究, 本文即从硅纳米颗粒对与之应用领域的靶细胞的影响的角度来探讨硅纳米颗粒的生物效应, 该结果的获得为硅壳纳米颗粒安全应用于细胞生物学研究、分析与应用提供了一

收稿日期: 2007-01-25.

基金项目: 国家“九七三”计划(批准号: 2002CB513110)、国家高科技发展规划(批准号: 2003AA302250)、国家科技攻关计划(批准号: 2003BA310A16)、教育部重点科研项目(批准号: 107084)、教育部新世纪优秀人才支持计划(批准号: NCET-06-0697)、科技部国际合作重点项目(批准号: 2003DF000039)、国家自然科学基金(批准号: 90606003, 20405005)和湖南省杰出青年基金(批准号: 06JJ10004)资助。

联系人简介: 王柯敏, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事化学生物传感技术及纳米尺度和分子水平上获取生物化学信息的研究。E-mail: kmwang@hnu.cn

定的安全标准,并为开展基于新型纳米颗粒的生物纳米器件的研究与应用奠定了基础。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

联吡啶钌配合物( $[\text{Ru}(\text{II})(\text{bpy})_3]^{2+} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 简称为 RuBpy, Fluka 公司), 细胞周期检测试剂盒(美国 Becton-Dickinson, Cat. No. 340242), 其它试剂均为国产分析纯。美洲绿猴肾细胞系(COS-7)为本实验室库存, 复苏后用常规方法接种于含质量分数为 15% 的小牛血清的 RPMI1640 完全培养基(加青霉素 100 IU/mL, 链霉素 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )中, 于 37  $^{\circ}\text{C}$ , 含体积分数为 5%  $\text{CO}_2$  的细胞培养箱中培养。

3000HS Zetasizer 分析仪(英国 Malvern 公司), JEM-1230 透射电子显微镜(日本电子光学研究所), Nu-4750E 细胞培养箱(美国 Nuair 公司), EL312e 酶联免疫检测仪(美国 Bio-Tek), FV500-IX70 激光共聚焦显微镜(日本 Olympus 公司), FACSCalibur 流式细胞仪(美国 Becton-Dickinson 公司), F-2500 荧光光谱仪(日本 Hitachi 公司)。

### 1.2 实验过程

1.2.1 FSiNPs 的制备、表征及在细胞培养基中的稳定性考察 采用文献[20]报道的方法获得了以荧光染料联吡啶钌配合物 RuBpy 为核及二氧化硅为外壳的 RuBpy 硅壳荧光纳米颗粒(FSiNPs), 并用 Zetasizer 分析仪和透射电子显微镜对 FSiNPs 的表面电势和形貌、大小进行表征。同时, 为了排除 FSiNPs 中的荧光染料对细胞生物效应研究的影响, 考察了 FSiNPs 在细胞正常的生理条件下的染料泄漏情况。将制备好的 FSiNPs 用水洗涤数次直至上清液无色, 以除去吸附在颗粒表面的染料分子, 然后将其悬浮于无酚红 RPMI1640 细胞培养基中(0.8  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ), 再等体积分装到 EP 管中, 测其在 450 nm 激发波长下 595 nm 处的荧光强度 [ $I_{\text{F}}(\text{Total})$ ], 在相同检测条件下, 无酚红细胞培养基的荧光信号记为  $I_{\text{F}}(\text{Blank})$ 。将其它样品置于细胞培养箱中, 在 37  $^{\circ}\text{C}$  培育不同时间后, 每天取出一管, 离心后取出上清液并测定其荧光信号 [ $I_{\text{F}}(\text{Supernatant})$ ] (每组平行 3 个样)。FSiNPs 中染料 RuBpy 的泄漏情况可以用下述公式来描述:

$$\text{染料泄漏}(\%) = [I_{\text{F}}(\text{Supernatant}) - I_{\text{F}}(\text{Blank})] / [I_{\text{F}}(\text{Total}) - I_{\text{F}}(\text{Blank})] \times 100\%$$

1.2.2 FSiNPs 与 COS-7 细胞生物效应研究 细胞存活率的测定: 采用 MTT 法<sup>[21]</sup>测定颗粒对细胞存活率的影响。将对数生长期的 COS-7 细胞以  $3 \times 10^3$  个/孔的密度分别接种于 3 块 96 孔板中(留数孔不加细胞作空白对照), 再置于细胞培养箱中培养。待细胞贴壁生长好后取出 96 孔板, 向其中加入含有 FSiNPs 的无菌细胞培养基溶液, 使其终浓度分别为 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 和 1.4  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , 每种浓度梯度做 5 孔平行实验, 留数孔不加纳米颗粒作为正常对照。充分混匀后放入细胞培养箱中继续培养, 使细胞与颗粒作用 24 h 后取出 96 孔板, 经 MTT 处理后加入 100  $\mu\text{L}$  DMSO, 震荡反应 10 min 后于酶联仪上测定波长为 570 nm 处的吸光度。采用细胞相对增殖率(RGR)或细胞存活率确定不同浓度 FSiNPs 对细胞影响的大小(RGR = 实验组 OD 值/对照组 OD 值), 并根据美国药典总 USP 细胞毒性分级标准<sup>[22]</sup>来度量不同浓度纳米颗粒对细胞存活率的影响程度。

细胞周期的测定: 选择对细胞存活率低毒性的 FSiNPs 终浓度, 进一步考察 FSiNPs 对 COS-7 细胞周期的影响。将 COS-7 细胞接种于 50 mL 培养瓶中, 待细胞长至对数生长期, 将原培养基替换为含有 FSiNPs 的新鲜培养基, 使其终浓度分别为根据细胞存活率确定的低毒性的 FSiNPs 终浓度。继续培养 6 h 后胰酶消化并收集细胞, 以 3000 r/min 的速度离心 5 min, 除去上清液, 用 PBS 洗涤数次后用 70% (体积分数)乙醇于 4  $^{\circ}\text{C}$  固定过夜, 离心弃去乙醇, 用 PBS 洗涤数次后用细胞周期检测试剂盒处理细胞, 首先加入 250  $\mu\text{L}$  含细胞分散剂的 A 液, 轻轻混匀后, 反应 10 min, 再加入 200  $\mu\text{L}$  含 RNA 酶的 B 液反应 10 min, 最后加入 200  $\mu\text{L}$  碘化丙锭 PI 染液, 避光染色 30 min, 保证细胞浓度为  $10^5 \sim 10^6$  个细胞/mL, 用流式细胞仪(BD 公司)检测。用 CellQUEST 软件获取数据, ModFit 软件分析结果。

细胞生长曲线的测定: 同样选择对细胞存活率低毒性的 FSiNPs 终浓度, 进一步考察 FSiNPs 对 COS-7 细胞生长曲线的影响。将 COS-7 细胞以  $10^4$  个/孔分别接种于 24 孔板中, 待细胞贴壁生长好后, 分别加入根据细胞存活率确定的低毒性的 FSiNPs 终浓度处理的细胞, 作用 6 h 后替换为新鲜的培养基

继续培养. 逐日取数孔细胞, 采用 MTT 法测定细胞的生长情况, 在酶联仪上测定波长为 570 nm 处的吸光度, 根据 OD 值与生长时间关系绘制细胞的生长曲线(2~3 d 换一次培养基, 每隔 24 h 测一次, 连续 6 d).

1.2.3 细胞传代过程中 SiNPs 在 COS-7 细胞内的分布情况 根据上述实验, 选择一个对细胞存活率、细胞周期及生长曲线都基本无影响的终浓度的 FSiNPs 与对数生长期的细胞作用 6 h 后, 消化细胞并重悬于新鲜培养基中, 平均分为 3 等份, 一等份细胞接种于放有盖玻片的 6 孔板中, 待 6 孔板中的细胞生长好后, 取出附有细胞的盖玻片, 固定封片后用激光共聚焦观察; 另一等份细胞离心收集并重悬于 PBS 中, 保证细胞终浓度为  $10^5 \sim 10^6$  个/mL, 然后于流式细胞仪上检测 COS-7 细胞内的相对荧光强度, 以 488 nm 的氩离子激光器激发, 收集 FL3 通道(580 nm 之后)的荧光信号; 剩下的一等份细胞再加入新鲜培养基后继续培养和传代. 并用上述同样的方法对经 FSiNPs 处理的第二、第三及第四代细胞进行观察和分析.

## 2 结果与讨论

### 2.1 FSiNPs 的表征及在细胞培养基中的稳定性

TEM 结果表明, 所制备的 FSiNPs 大小均匀, 直径约为  $(48.2 \pm 3.5)$  nm, 呈明显的球形, 表面  $\zeta$  电势为  $(-35.5 \pm 3.5)$  mV. 利用 F-2500 荧光仪对 FSiNPs 在无酚红培养基中的荧光稳定性进行考察, 结果如图 1 所示. 可见, 将 SiNPs 在细胞培养箱中放置 1 d 后, 其荧光强度降低了约 5%, 但是随着放置时间的延长, FSiNPs 的荧光强度基本稳定, 无荧光强度下降的趋势. 因此, 在考察 FSiNPs 与细胞的生物效应时基本上可以排除染料泄露的影响, 原因在于本文实验中所用的含有 FSiNPs 的细胞培养液均为在细胞培养箱中放置 2 d 后再离心重悬, 此时 FSiNPs 在细胞的正常生理条件下已基本稳定, 可以排除染料对细胞的影响, 同时也不会干扰利用纳米颗粒的荧光强度作为检测信号来研究硅壳纳米颗粒与细胞的生物效应.

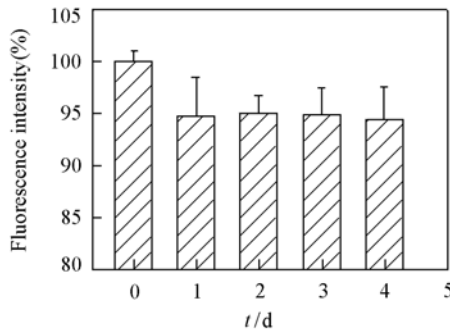


Fig. 1 Fluorescent stability of FSiNPs in cell culture medium

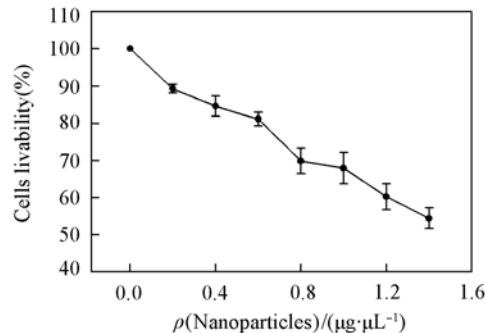


Fig. 2 Effects of FSiNPs on COS-7 cells livability at the mass concentration of 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 and 1.4  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , respectively

### 2.2 FSiNPs 与 COS-7 细胞的生物效应

2.2.1 FSiNPs 对 COS-7 细胞存活率的影响 通过对细胞存活率的测定来评价 FSiNPs 对 COS-7 细胞的影响程度. 考察结果表明(图 2), 当 FSiNPs 与细胞作用的终质量浓度为  $0.2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  时, COS-7 细胞的存活率约为 90%, 对细胞增殖产生的负面生物效应非常小; 当 FSiNPs 质量浓度增大到  $0.6 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  时, COS-7 细胞的存活率下降到约 80%, 按美国药典分级标准<sup>[22]</sup>判断为低毒性; 但当 FSiNPs 浓度增至  $0.8 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  时, COS-7 细胞的存活率降低了约 30%, 对细胞产生了一定程度的负面影响, 当 FSiNPs 与细胞作用的质量浓度增大到  $1.4 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ , 将近一半的细胞发生了死亡. 从而表明 FSiNPs 对细胞存活率的影响是浓度依赖性的, 当 FSiNPs 纳米颗粒与细胞作用的质量浓度低于  $0.6 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  时, FSiNPs 对 COS-7 细胞系产生的毒副作用较小, 随着与细胞作用的 FSiNPs 浓度的增加, 细胞的存活率降低, 对细胞产生的负面影响增大.

2.2.2 FSiNPs 对 COS-7 细胞周期的影响 通过上述细胞存活率的测定得出了当 FSiNPs 与细胞作用的

质量浓度低于  $0.6 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  时, FSiNPs 对 COS-7 细胞产生的毒副作用均较小的结果. 为进一步研究 FSiNPs 对细胞的生物效应, 选择了 3 个对细胞低毒性的 FSiNPs 终质量浓度 (即  $0.2$ ,  $0.4$  和  $0.6 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) 研究 FSiNPs 对 COS-7 细胞周期的影响, 结果见图 3. 图 3 中  $G_1$ , S 和  $G_2$  分别代表细胞周期中 DNA 的合成前期、合成期和合成后期 (本文采用细胞增值指数 [Proliferative index,  $PI = (G_2 + S)/(G_1 + S + G_2)$ ] 来衡量 FSiNPs 对细胞周期的影响). 和未与 FSiNPs 作用的 COS-7 细胞周期的图谱相比, 与  $0.2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  的 FSiNPs 作用后的 COS-7 细胞 S 期增多,  $G_2$  期虽有少量减少, 但是 PI 值增大, 这意味着低浓度的 FSiNPs 不但不会干扰 COS-7 细胞系的细胞周期, 反而能促进其分裂.

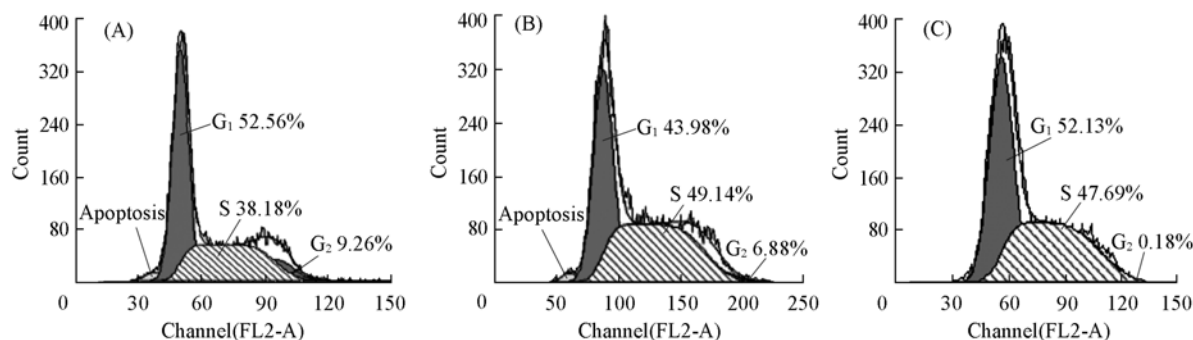


Fig. 3 Effects of FSiNPs on COS-7 cells-cycle at different concentrations

(A) Control; (B)  $0.2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ; (C)  $0.4 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ .

在经  $0.4 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  的 FSiNPs 作用后的 COS-7 细胞周期中, 虽然 S 期与对照组相比有上升的趋势, 但  $G_2$  期细胞百分率却明显降低, PI 值也降低, 这说明此浓度的 FSiNPs 虽然能加速 COS-7 细胞内 DNA 的合成, 但却阻滞了细胞进入  $G_2$  期, 干扰了细胞的分裂, 对 COS-7 细胞周期带来了一定的负面影响. 而经  $0.6 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  作用后的 COS-7 细胞的细胞周期完全紊乱, 无法测得细胞周期图谱. 因此可以得出结论: FSiNPs 对 COS-7 细胞系细胞周期的影响亦是浓度相关的, 尽管在一定浓度范围内, 从细胞存活率的角度来分析对细胞是低毒性的, 但只有低质量浓度的 FSiNPs ( $<0.2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) 才不会对细胞周期造成负面影响, 反而在一定程度上促进了细胞的生长, 高浓度的 FSiNPs 则会明显抑制细胞的分裂, 导致细胞周期紊乱.

2.2.3 FSiNPs 对 COS-7 细胞生长曲线的影响 为进一步证实前面结果的可靠性, 继续以质量浓度分别为  $0.2$ ,  $0.4$  和  $0.6 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  的 FSiNPs 为标准, 考察 FSiNPs 对细胞生长曲线的影响.

从图 4 可看出, 终浓度为  $0.2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  的纳米颗粒作用后的 COS-7 细胞的生长规律 (图 4 曲线 b) 与未经 FSiNPs 处理的 COS-7 细胞的生长趋势 (图 4 曲线 a) 基本相似, 对数生长期均处于第 4、第 5 天, 而第 6、第 7 天的细胞则进入衰亡期, 两者无明显差异. 但经终浓度为  $0.4$  和  $0.6 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  的 FSiNPs 处理后的 COS-7 细胞分别在第 3 天和第 2 天大量死亡, 无法绘制出生长曲线. 从 FSiNPs 对细胞的整个生长过程的影响也证实了 FSiNPs 对 COS-7 细胞的影响是浓度依赖性的, 只有低质量浓度的 FSiNPs ( $<0.2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) 才不会对细胞生长曲线造成负面影响.

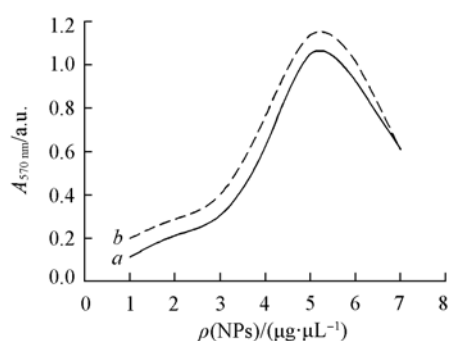
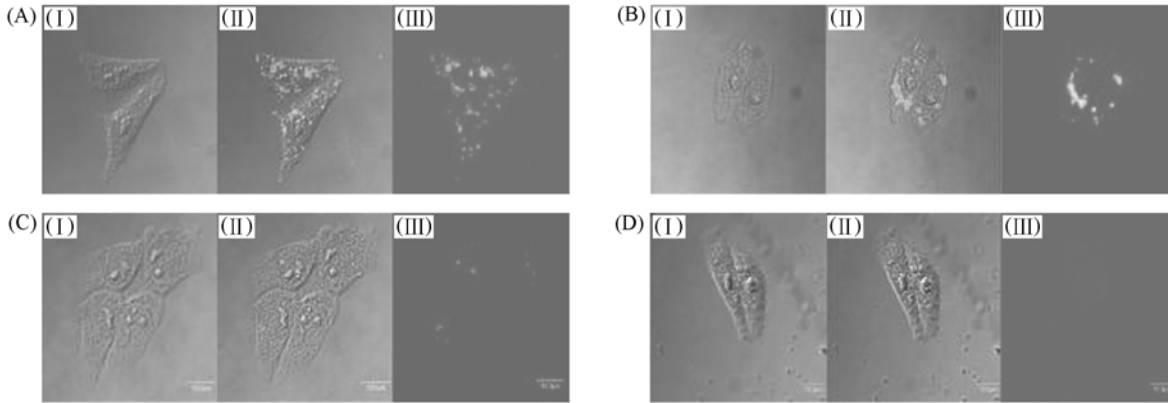


Fig. 4 Cell growth curve of COS-7 cells (a) and the cell growth curve of COS-7 cells incubated with FSiNPs at the mass concentration of  $0.2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  (b)

### 2.3 细胞传代过程中 FSiNPs 在 COS-7 细胞内的分布情况

细胞周期与生长曲线的研究表明,  $0.2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  的 FSiNPs 基本上不会对 COS-7 细胞产生影响. 为进一步证实这一现象, 利用 FSiNPs 的荧光信号同步指示作用, 考察了经终质量浓度为  $0.2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  的 FSiNPs 处理后的细胞经过多次传代后, FSiNPs 在细胞内的分布以及去向. 经终质量浓度为  $0.2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  的 FSiNPs 处理后的细胞经过不同次传代后的细胞共聚焦显微镜成像结果如图 5 所示. 可见, FSiNPs 在

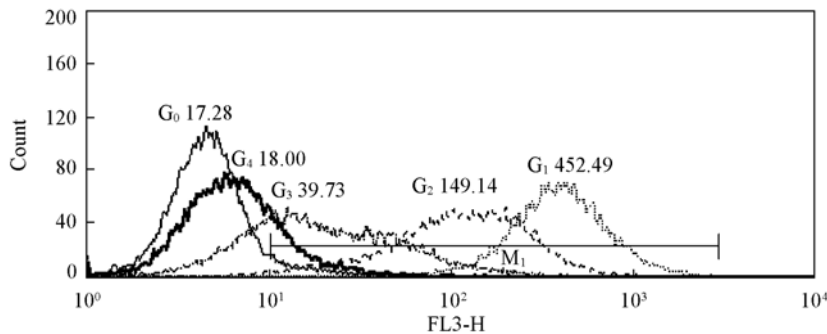
与 COS-7 细胞共同培养 6 h 后即发现 FSiNPs 已较多地进入细胞, 并随机地分布在 COS-7 细胞质中, 在细胞的分裂过程中随着胞质进入到下一代细胞中, 而细胞的形态和生长状况依然良好, 随着细胞传代次数的增多, FSiNPs 在细胞内逐渐减少, 当细胞传至第四代时, 基本上已无法观察到细胞内的荧光信号.



**Fig. 5 Confocal images of COS-7 cells after uptake of FSiNPs at the mass concentration of 0.2  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$**

I, II and III were the optical-field images, merge images and fluorescent-field images of the cells, respectively. Images of cells which react with fluorescent nanoparticles after propagating for one time (A), two times (B), three times (C) and four times (D).

流式细胞仪的结果(图 6)也显示了 FSiNPs 在 COS-7 细胞中的荧光强度随着传代次数的增多而减少, 当细胞传至第四代时, 细胞内 FSiNPs 的荧光强度基本上接近于对照细胞, 即细胞内几乎没有 FSiNPs 的存在. 这些结果进一步说明了终质量浓度为 0.2  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  的 FSiNPs 对 COS-7 细胞的生长没有影响.



**Fig. 6 Fluorescent intensity of COS-7 cells after uptake of FSiNPs at the mass concentration of 0.2  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$**

$G_0$ : Relative fluorescent intensity plot of control group;  $G_1$ : plot of cells which react with fluorescent nanoparticles,  $G_2$ ,  $G_3$  and  $G_4$ : plot of cells which react with fluorescent nanoparticles after subculture for the first time, the second time and the third time, respectively.

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Kelly K. L. . Science[J], 2004, **304**(5678): 1732—1734
- [ 2 ] Fujimoto T. . AIST Today: Int. Edition[J], 2005, **15**: 13—15
- [ 3 ] Dufour P. , Hassan M. H. A. . Issues Sci. Technol. [J], 2005, **22**(1): 15—16
- [ 4 ] Service R. F. . Science[J], 2003, **300**(11): 243—243
- [ 5 ] Morrissey S. R. . Chem. Eng. News[J], 2005, **83**(49): 46—48
- [ 6 ] Service R. F. . Science[J], 2003, **300**(11): 243
- [ 7 ] Brumfiel G. . Nature[J], 2003, **424**(17): 246—248
- [ 8 ] Zhang W. X. . Environ. Sci. Technol. [J], 2003, **37**(5): 103—108
- [ 9 ] Katherine A. , Margaret R. , Jillian F. . Environ. Sci. Technol. [J], 2006, **40**(5): 1401—1407
- [ 10 ] Materials Today[J], 2004, **7**(2): 32—35
- [ 11 ] Lam C. W. , James J. T. , McCluskey R. , *et al.* . Toxicol. Science[J], 2004, **77**(1): 126—134

- [12] Kirchner C., Liedl T., Kudera S., *et al.*. *Nano. Lett.* [J], 2005, **5**(2): 331—338
- [13] LIU Lan(刘岚), TANG Meng(唐萌), HE Zheng(何整), *et al.*. *J. Environmental and Occupational Medicine(环境与职业医学)* [J], 2004, **21**(1): 14—17
- [14] Jean-Paul P., Didier B.. *Colloids Surf., B: Biointerfaces*[J], 1999, **16**(1): 173—183
- [15] He X. X., Wang K. M., Tan W. H., *et al.*. *J. Am. Chem. Soc.* [J], 2003, **125**(24): 7168—7169
- [16] Zhao X. J., Tapeç-Dytioco R., Wang K. M., *et al.*. *Anal. Chem.* [J], 2003, **75**(14): 3476—3483
- [17] Yang H. H., Zhang S. Q., Chen X. L., *et al.*. *Anal. Chem.* [J], 2004, **76**(5): 1316—1321
- [18] ZHU Shi-Guo(朱诗国), GAN Kai(甘凯), LI Zheng(李征), *et al.*. *Cancer(癌症)*[J], 2003, **22**(10): 1114—1117
- [19] HE Xiao-Xiao(何晓晓), LIU Fang(刘芳), WANG Ke-Min(王柯敏), *et al.*. *Chinese Sci. Bull. (科学通报)* [J], 2006, **51**(10): 1156—1162
- [20] HE Xiao-Xiao(何晓晓), WANG Ke-Min(王柯敏), TAN Wei-Hong(谭蔚泓), *et al.*. *Chinese Sci. Bull. (科学通报)* [J], 2001, **46**(16): 1353—1356
- [21] PENG Qin(彭勤), PENG Hui(彭惠), LUO Yun-Peng(骆云鹏), *et al.*. *Current Advances in Obstetrics and Gynecology(现代妇产科进展)*[J], 2000, **9**(5): 16—18
- [22] U. S. Pharmacopeia/National Formulary(USP/NF). Edited by The United States Pharmacopoeial Convention, USP29, 2005

## Bioeffects of Silica-coated Nanoparticles on COS-7 Cells

LIU Fang, HE Xiao-Xiao, WANG Ke-Min\*, GE Jia, TAN Wei-Hong

(*State Key Laboratory of Chemo/Biosensing and Chemometrics, Engineering Center for Biomedicine, Institute of Life Science & Biological Technology, Key Laboratory for Bio-Nanotechnology and Molecule Engineering of Hunan Province, Changsha 410082, China*)

**Abstract** In this paper, the cell livability, cell cycle and cell growth curve were analyzed to evaluate the bioeffects of silica-coated nanoparticles on COS-7 cell line. The results indicate that the cytotoxicity of FSiNPs on COS-7 cells was concentration dependent. No measurable cytotoxic effects of FSiNPs were observed on the cell livability, cell cycle and cell growth if the nanoparticles concentration below 0.2  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ . But the cytotoxic of FSiNPs on COS-7 cells would increase with the increasing of nanoparticles concentration. Meanwhile, the cellular uptake of FSiNPs at low concentration by COS-7 cells was also examined by employing the fluorescence dye RuBpy doped as a signal for tracking the silica coated nanoparticles. It was found that cells can uptake FSiNPs at random by cell membranous' endocytosis when they co-cultured together, and then they excluded parts of FSiNPs to cell culture medium, also parts of FSiNPs can be distributed to the next generation cells. Moreover, the content of FSiNPs in cells are less and less following the manifold of new cytoplasm and cells reproduction, while cells still remained a good shape and growth state after the uptake of nanoparticles. These results provide safely standards for the research, analysis and application of FSiNPs in cell biology. Also, it was a foundation of the research of bionano-device based on the novel nanoparticles.

**Keywords** Silica coated nanoparticles(SiNPs); COS-7 cell line; Bioeffects

(Ed. : A, G)