

課題番号 : F-12-AT-0005
支援課題名(日本語) : DMEM 溶液中 Alexa488 標識 PAMAM-NH2 デンドリマーの SPM による挙動解析
Program Title(in English) : SPM studies of 4-generation PAMAM dendrimer in the DMEM liquid medium
利用者名(日本語) : 曾根 秀子
Username(in English) : Hideko Sone
所属名(日本語) : 独立行政法人国立環境研究所 環境リスク研究センター
Affiliation(in English) : National Institute for Environmental Studies, Center for Environmental Risk Research

概要(Summary):

液中における Alexa488 標識 PAMAM-NH2 (A488PAMAM-NH2) デンドリマーの挙動について、走査型プローブ顕微鏡(SPM)により観察を行った。試料は第4世代(4層)からなる A488PAMAM-NH2 デンドリマーの細胞培養液 DMEM で希釈した 2.5%溶液をマイカ基板に滴下後、直ちに DMEM で満たした観察容器にプローブを挿入して試料のサイズ、挙動の観察を 5 日間行なった。その結果、日経過により DMEM 中の PAMAM-PEG 粒子は拡大することがわかった。

実験(Experimental):

溶液セルに固定したマイカ基板をヘキ開直後に、DMEM にて4倍希釈した A488PAMAM-NH2 を 1 μ l 滴下し、速やかに DMEM 溶液を満たした SPM 装置(SPM-9700 島津製作所製)に移し観察を開始した。蒸発などにより減った溶液は、適宜 DMEM 溶液を追加した。観察終了から次回観察開始までの間は蒸発を防ぐため溶液にパラフィルムを貼り、冷蔵庫 4 $^{\circ}$ C にて保存した。

結果と考察(Results and Discussion):

走査型プローブ顕微鏡によるマイカ基盤上で、体液に等しい DMEM 溶液中における A488PAMAM-NH2 の観察を行った。観察開始、1 日目で粒径 94.1~102.5 nm、高さ 74.31~80.8 であった。2 日目で粒径 152.4~165.4nm、高さ 125.0~134.9 であった。3 日目で粒径 215.3~234.1 nm、高さ 199.4~202.7 であった。4 日目で粒径 217.4~297.8 nm、高さ 166.2~258.9 であった。5 日目で粒径 316.5~367.2 nm、高さ 285.4~290.5 となった。

PAMAM-NH2 の1日目の結果では、同様な測定条件で粒径 21.2~41.5 nm、高さ 18.1~33.4 で、A488PAMAM-NH2 より小さかった。Alexa488 標識は、

非標識の PAMAM-NH2 よりも親水性であり、Alexa488 はマイナスイオンの荷電をもつ。A488PAMAM-NH2 のより大きな凝集塊は、この親水性と関係している可能性が考えられた。

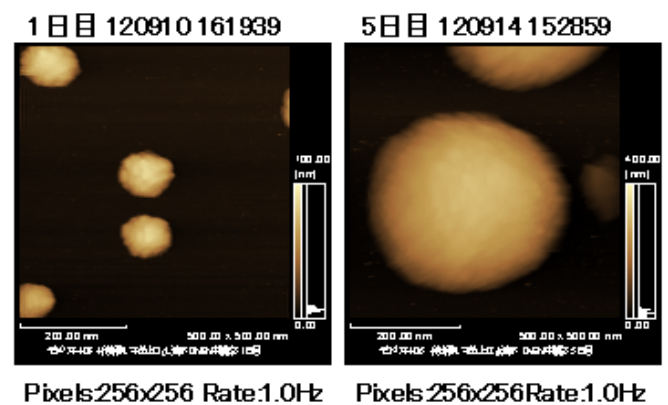


図1 500nm 視野観察による A488PAMAM-NH2 の経日変化

その他・特記事項 (Others):

今後の課題: 環境中や生体を反映した状況を考えると、PAMAM dendrimer の表面基の修飾と溶液中の PH や塩濃度との関係により、その集合体の構造が変化するかどうか検討する必要がある。

参考文献

- 1) J. Environ. Monit, 2011, 13, 1135-1144 DOI: 10.1039/C1EM00002K)
- 2) Maynard AD Nature 475:31 doi:10.1038/475031a

共同研究者等(Coauthor): 山崎 将嗣, 羽山和美, 黒河佳香, Tin Tin WinShwe, 平野靖史郎

論文発表状況・特許状況

1. The 6th International Symposium on Nanotechnology, Occupational and Environmental Health (NanOEH) (2013, 10, 名古屋 予定)