

課題番号 : F-17-HK-0013  
利用形態 : 機器利用  
利用課題名(日本語) : Layer by layer 法による銀ナノ粒子の表面修飾と細胞への取込み観察  
Program Title (English) : Layer by layer surface modification of Ag nanoparticles for targeting drug delivery system  
利用者名(日本語) : 上園周平<sup>1)</sup>, 堀菜月<sup>1)</sup>, 渡邊希理<sup>1)</sup>, 石田拓人<sup>1)</sup>, 広瀬慎太郎<sup>1)</sup>, 猪瀬朋子<sup>1)</sup>, 雲林院宏<sup>1),2)</sup>  
Username (English) : S. Uezono<sup>1)</sup>, N. Hori<sup>1)</sup>, K. Watanabe<sup>1)</sup>, T. Ishida<sup>1)</sup>, S. Hirose<sup>1)</sup>, T. Inose<sup>1)</sup>, H. Uji-i<sup>1),2)</sup>  
所属名(日本語) : 1) 北海道大学電子科学研究所, 2) ルーバン大学  
Affiliation (English) : 1) RIES, Hokkaido University, 2) KULeuven  
キーワード/Keyword : layer by layer 表面修飾法、銀ナノ粒子、ドラッグデリバリーシステム、形状・形態観察、分析

### 1. 概要 (Summary)

主ながん治療の一つとして、抗がん剤による化学療法が挙げられる。化学療法は、外科手術や放射線療法と併用して広く用いられている治療法である一方、重篤な副作用が問題となっている。本研究では、細胞内での抗がん剤の代謝過程を詳細に解明することで、科学的根拠に基づいた、新たな抗がん剤開発の指針とすることを目的とする。本研究では、銀ナノ粒子を細胞内へ取り込ませ、細胞内の表面増強ラマン散乱(SERS)シグナルを取得することで、上記目的の達成を目指す。このために本年度は、銀ナノ粒子を効率よく細胞内へと取り込ませるための銀ナノ粒子の表面修飾条件の最適化を行った。

### 2. 実験 (Experimental)

【利用した主な装置】高分解能電界放射型走査電子顕微鏡(JSM-6700FT)

#### 【実験方法】

銀ナノ粒子は、硝酸銀水溶液にクエン酸とアスコルビン酸を加えて15分間攪拌することで得られた。このナノ粒子表面を、静電的相互作用により、ポリメタクリル酸、ポリエチレンイミンをコーティング後、さらに肺がん細胞などで過剰発現していることが知られているタンパク質と特異的に反応するヒアルロン酸でコーティングした。

これらのナノ粒子およびポリマーコーティング後の形状変化は、高分解能電界放射型走査型電子顕微鏡を用いて評価した。

### 3. 結果と考察 (Results and Discussion)

合成した銀ナノ粒子は、図aに示すように、突起を多く有する花形の形状をしていることが、SEM観察の結果から明らかになった。さらに、ヒアルロン酸コーティングを施した銀ナノ粒子について、加速電圧5 kVで同じナノ粒子をしばらくスキャンし続けたところ、最初は図aのように鮮明な像が得られたが、しばらくすると、図bにしめすように膜の

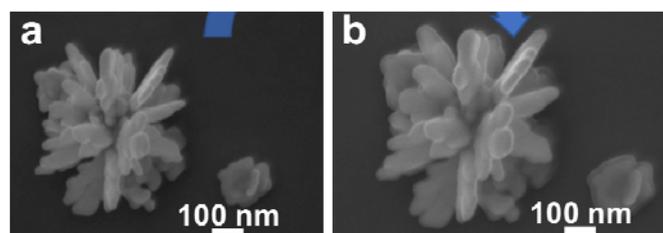


Figure. SEM images of silver nanoparticles (AgNP) coated with hyaluronic acid. (a) AgNP for the first scanning, (b) AgNP scanned after several minutes scanning.

ようなものがナノ粒子表面に観察された。これは、電子線の熱により、粒子表面のポリマーが剥げたことで、図bのように観察されたと予想される。実際コーティング前の銀ナノ粒子では、しばらくスキャンを続けても、このような変化は観察されなかった。

銀ナノ粒子のポリマーコーティングが成功していることは、ゼータ電位からも確かめている。この銀ナノ粒子を細胞内へと取り込ませ、共焦点顕微鏡でナノ粒子の様子を観察したところ、ナノ粒子を細胞へ添加してから24時間後には、ナノ粒子が細胞内へと取り込まれていることが観察された。今後は、このナノ粒子を用いて、細胞内 SERS 測定が可能か、検討していく予定である。

### 4. その他・特記事項 (Others)

装置の使用にあたっては、電子研技術部の中野和歌子様、平井直美様、森有子様、ナノテク連携推進室の松尾保孝先生に大変お世話になりました。

### 5. 論文・学会発表 (Publication/Presentation)

- (1) B. Fortuni, T. Inose, and H. Uji-I *et al.*, Chem. Commun., Vol. 53 (2017) p.p.11298-11301.
- (2) T. Inose *et al.*, ナノ学会第15回大会, 平成29年5月10日(発表日).

### 6. 関連特許 (Patent)

なし。