



Title	Studies of Cellular Uptake of Surface-engineered Triangular-shaped Gold Nanoparticles [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	南原, 克行
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第12783号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65427
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Katsuyuki_Nambara_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（理学） 氏名 南原 克行

審査担当者	主査	教授	佐田 和己
	副査	教授	居城 邦治
	副査	教授	佐藤 敏文
	副査	准教授	新倉 謙一
	副査	教授	坂口 和靖

学 位 論 文 題 名

Studies of Cellular Uptake of Surface-engineered Triangular-shaped Gold Nanoparticles
(表面修飾三角形金ナノプレートの細胞取り込みに関する研究)

近年、目的とした細胞内へ薬剤を輸送するドラッグデリバリーシステム（DDS）に関する研究が盛んに行われている。DDSにおいて重要な点は、細胞膜という障壁を効率よく突破することであり、そのための様々な研究が報告されてきた。その中でもナノキャリアを用いる方法があり、特に金ナノ粒子は生体適合性が高く、サイズや形状・表面物性を容易に変更出来ること、またそれらが細胞への取り込みに影響を与えることが知られており、DDSにおいて興味深い物質として注目されている。しかしながら、金ナノ粒子のサイズや形状・表面物性と細胞への取り込みの関係について、これまであまり解明されていなかった。これらを理解することは、ナノキャリアを用いた DDS において新たな知見を与えることを可能とする。本論文では、金ナノ粒子の形状、特に三角形金ナノプレートを用いることで、細胞への取り込みのメカニズムを明らかにすることを目的としている。

本論文は全 5 章から構成されている。

第 1 章では、ナノ粒子を用いた DDS について議論しており、次いで金ナノ粒子のサイズ・形状や表面物性と細胞取り込みの関係について議論している。金ナノ粒子の形状に着目し、細胞への取り込みの各過程において有利な形状は何かについて説明している。

第 2 章では、様々なサイズをもつ三角形金ナノプレート及び金ナノ粒子を作製し、それらの表面交換反応について検討している。作製した三角形金ナノプレート及び金ナノ粒子については、紫外可視吸光スペクトル、動的光散乱、電子顕微鏡観察、ICP 発光分析及び NMR を用いて、様々なサイズの三角形金ナノプレート及び金ナノ粒子の作製が出来たこと、及びその表面交換反応の進行を確認している。

第 3 章では、作製した三角形金ナノプレート及び金ナノ粒子の細胞への取り込みについて、2 種類の細胞（RAW264.7 細胞及び HeLa 細胞）を用いて検討している。24 時間培養後の三角形金ナノプレート及び金ナノ粒子の細胞への取り込み量を ICP 発光分析により解析した結果、どちらの細胞においても、三角形金ナノプレートはそのサイズが大きいほど細胞への取り込み量が多く、金ナノ粒子はサイズが小さいほど細胞への取り込み量が多いことを明らかにしている。細胞膜への三角形金ナノプレート及び金ナノ粒子の接着を検討した結果、三角形金ナノプレートは金ナノ粒子より細胞膜への接着が有利な構造であることを明らかにしている。さらに細胞の電子顕微鏡観察やエンドサイトーシス経路を阻害した実験から、三角形金ナノプレートと金ナノ粒子では、サイズや形状により細胞への取り込み機構が異なることを明らかにしている。

第 4 章では、これまで作製した三角形金ナノプレート及び金ナノ粒子に、抗原タンパク質であるヘマグルチニン（HA）を Ni²⁺-NTA/His-tag の特異的結合により固定化し、その細胞への取り込みやワクチン活性について検討している。HA の固定化量を western blotting により解析した結果、総固定化数は金ナノ粒子のサイズや形状に依存しなかったこと、及び大きいサイズの高金ナノ粒子においては、非特異吸着で結合している HA の量が多いことを明らかにしている。次に金ナノ粒子表面に固定化した HA の構造安定性について CD スペクトルにより評価した結果、大きいサイズの高金ナノ粒子はタンパク質の二次構造に変化が起きていることを明らかにしている。さらに HA 固定化三角形金ナノプレート及び金ナノ粒子の細胞への取り込み量を評価した結果、三角形金ナノプレートは金ナノ粒子よりも細胞内に多量の HA を輸送可能であることを明らかにしている。これらの結果から、タンパク

質の細胞内輸送において三角形金ナノプレートは金ナノ粒子より効率の良いキャリアであることを見出している。またマウスを用いた抗体産生実験を行った結果、三角形金ナノプレートは金ナノ粒子より抗体産生量が多いことを明らかにしている。第3章と第4章の結果から、三角形金ナノプレートはDDSに有利な形状であると結論づけている。このような金ナノ粒子の形状に関する知見は、DDSの新規キャリアへの応用に期待できる。

第5章では、第2章から第4章までの本学位論文における総括をしている。これを要するに、著者は、金ナノ粒子の形状、特に三角形金ナノプレートを用いることで細胞への取り込み量が金ナノ粒子より多くなること、及び表面に固定化したタンパク質を変性させずに細胞内へ輸送可能であることを見出している。これらはコロイド化学、材料化学の分野において世界に先駆けした価値の高い業績であり、今後の金ナノ粒子を用いたDDSの設計指針に貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（理学）の学位を授与される資格あるものと認める。