

架橋高分子被覆単層CNTの長さ分画法の開拓および分画単層CNTの光学特性と生体内挙動に関する研究

濱野, 凌

<https://hdl.handle.net/2324/7363775>

出版情報 : Kyushu University, 2024, 博士 (工学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :



氏 名 : 濱野 凌

論文名 : 架橋高分子被覆単層 CNT の長さ分画法の開拓および分画単層 CNT の光学特性と生体内挙動に関する研究

区 分 : 甲

論文内容の要旨

単層カーボンナノチューブ (SWCNT) は、直径約 1 nm、長さ数 10~1000 nm の高いアスペクト比と大きな疎水表面、生体組織による散乱や吸収が特に小さい近赤外 (NIR-II) 領域におけるフォトルミネッセンス (PL) を示す一次元ナノ材料である。SWCNT は、その特徴的な一次元ナノ構造に由来した種々の生体に有利な特性と表面修飾の多様さから、NIR-II 領域の PL イメージングプローブや薬剤・遺伝子送達の担持体などへの応用が期待されている。ナノ材料の光学特性や生体との相互作用等の特性がその物理的サイズに支配されることは SWCNT も例外ではなく、その特性を制御し好ましい特性を利用するために SWCNT の長さを制御する必要がある。しかし、現時点では合成段階で SWCNT の長さ制御は困難であるため、得られた SWCNT をコロイド状に分散し長さを分画する手法が開発されてきた。これまで電気泳動法、遠心分離法、分子集密による選択的沈殿法、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) を用いた SWCNT の長さ分画が報告されており、中でも SEC は電気泳動法や遠心分離法より比較的簡単に高い分解能で長さ分画が可能であることが知られている。SEC による SWCNT の長さ分画では、SWCNT がカラム内を通過する際に SWCNT 同士がその強いファンデルワールス力によって凝集することなく 1 本 1 本が孤立に分散された状態を維持している必要があり、これまで DNA を分散剤に使用し SWCNT 表面を物理的に修飾し孤立分散状態を維持する方法が用いられてきた。しかし、DNA で分散された SWCNT は、血中で凝集することや細胞内でより親和性の高いタンパク質に置換され分散状態が不安定になることが知られている。そのため、SEC による SWCNT の長さ分画とその後の生体応用のために、より高い分散安定性と生体適合性を有する SWCNT の分散方法で長さ分画する必要が求められる。

乳化重合法を基礎とする CNT ミセル重合法では、SWCNT 表面に脱離しない約 1nm 程度の薄い架橋高分子層を形成でき、分散剤の役割を果たす。架橋高分子層は基本的には SWCNT 表面に共有結合せず sp^2 結晶構造を破壊しないため、SWCNT の本来の光学特性を維持したまま、物理修飾法よりも安定に SWCNT を分散できる方法である。また、重合に使用できるモノマーの多様性が特徴的であり、ポリエチレングリコールメタクリレート (PEGMA) やマレイミド基を有するモノマーを架橋高分子層に導入することで、SWCNT に生体適合性やリガンドの後修飾機能を付与できる。近年、明るい NIR-II 領域の PL によるマウス血管のライブイメージングが実証されるなど、架橋高分子被覆 SWCNT は生体応用がへの幅広い展開が期待されるナノ材料である。しかし、CNT ミセル重合法では、架橋高分子被覆 SWCNT の PL イメージングプローブや腫瘍の光熱治療剤を指向した表面改質の技術は発展しているものの、従来とは異なる分散方法による界面環境下において、特性制御に必須な物理的サイズ：長さの分画は未達であり、また SWCNT の光学特性を支

配する励起子や生体との相互作用の長さ依存性の理解が十分に進んでいない現状がある。ここで、SWCNT 本来の表面構造および光学特性を維持したまま血中内でも高い孤立分散状態と安定性を実現できる架橋高分子被覆 SWCNT は、SEC カラム内でも高い孤立分散安定性を維持できる、すなわち SEC による長さの分画に適応可能でであると考えた。そこで本研究ではサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) による架橋高分子被覆 SWCNT の長さ分画法の開拓、光学特性の長さ依存性の調査および生体応用への展開に取り組んだ。

2 章では、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) による架橋高分子被覆 SWCNT の長さ分画法を開拓した。その結果、移動相に界面活性剤などの追加の分散剤を必要とせず、100~500 nm の範囲で高精度の長さ分画を行うことが出来た。また、重合時の副生成物である SWCNT を含まないフリーポリマーを除去・架橋高分子被覆 SWCNT を精製でき、吸収・PL およびラマン分光分析により架橋高分子被覆 SWCNT の光学特性の長さ依存性を評価できた。さらに長さ分画後の架橋高分子層のマレイミド基にタンパク質を後修飾が可能であることを実証し、架橋高分子被覆 SWCNT の長さに依存する生物学的研究への応用を可能にした。

3 章では、2 つの異なるアリアルジアゾニウム塩の局所化学修飾により合成した lf-SWCNTs の、元の PL よりも励起子のエネルギー準位が~170 mV 低い E_{11}^* PL および~270 meV 低い E_{11}^* PL 局在励起子に対する界面誘電環境、溶液温度、平均 SWCNT 長さの依存性を調査した。その結果、架橋高分子で被覆した lf-SWCNTs の E_{11}^* PL は E_{11}^* PL よりも親水的な誘電環境下で温度に対して PL 強度が敏感に応答し、平均 SWCNT 長が長い架橋高分子被覆 lf-SWCNTs ほど E_{11}^* PL の温度応答性が高いことが明らかになった。これにより、架橋高分子被覆 lf-SWCNTs は E_{11}^* PL 局在励起子の環境応答性の利用と長さの制御により、細胞内等の生体内における局所温度プローブとして応用できる可能性が示された。

4 章では、生体適合性の PEGMA を共重合した架橋高分子被覆 SWCNT のマウスにおける血中滞留時間および生体内分布をラマン分光法により定量分析した。SEC でフリーポリマーを除去し精製された架橋高分子被覆 SWCNT の長さは約 100 nm であり、バイオイメーキングの分野で一般的に使用される生体適合性界面活性剤 PL-PEG を用いて分散された同じ長さ分布の PL-PEG/SWCNTs と比較対象とした。その結果、架橋高分子被覆 SWCNT は PL-PEG/SWCNTs よりも、血中滞留時間が長く、肝臓や脾臓の細網内皮系臓器への低い集積傾向を示し、抗 PEG 免疫反応である ABC 効果 (Accelerated Blood Clearance effect) が弱い可能性があることを発見した。また担癌マウスを用いた実験では PL-PEG/SWCNTs と同程度の腫瘍集積率を示し、架橋高分子被覆 SWCNT が優れたバイオイメーキングプローブおよび腫瘍治療剤として応用できるポテンシャルを有していることを示した。

本研究により、架橋高分子被覆 SWCNT の SEC による長さ分画法の開拓を通じて、架橋高分子被覆 SWCNT の励起子挙動による光学特性の環境応答性と長さ依存性が明らかになった。また、マウスを用いた *in vivo* 実験により、架橋高分子被覆 SWCNT の高い生体適合性と低い免疫原性が示唆される結果が得られた。これにより、架橋高分子被覆 SWCNT の血中滞留時間と生体内分布の長さ依存性に関するより詳細な基礎的研究を行うことが可能なり、架橋高分子 SWCNT の生体との相互作用の基礎的知見を明らかにする更なる研究が展開され、NIR-II 領域の PL イメーキングプローブおよび腫瘍治療剤の開発に通じることが期待される。