

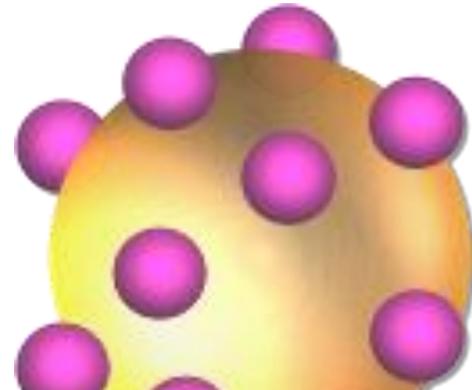
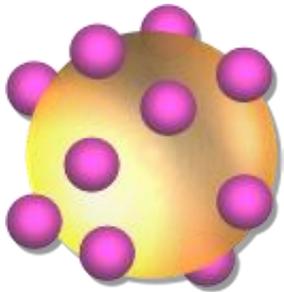
放射線による触媒などの 機能性ナノ材料創製

～触媒以外への応用展開～
(抗菌繊維材やバイオメディシンの例)

大阪大学大学院工学研究科
清野智史



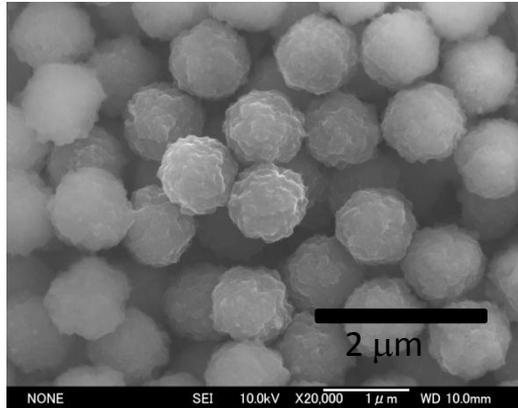
金磁性複合ナノ粒子の バイオ分野への応用



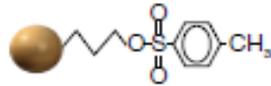
市販のバイオ用磁性粒子の現状

For In-vitro Applications (e.g. Dynabeads®)

- ✓ Small magnetic NPs (> 10 nm) are confined in the micrometer sized polymer beads.
- ✓ Surface of the polymer beads are modified with functional groups to make them combined with biomolecules.



Dynabeads® M-280
Tosylactivated



- Hydrophobic bead
- Surface tosyl groups

Dynabeads® M-270
Carboxylic Acid



- Hydrophilic bead
- Surface carboxylic acid groups

Dynabeads® M-270
Amine



- Hydrophilic bead
- Surface amino groups

- ✓ Commercial magnetic beads are used for;
 - Magnetic Separation/Purification of specific target (Cell, DNA, Proteins, etc.).
 - Gene Transduction Agent

For In-vivo Applications (e.g. Resovist®)

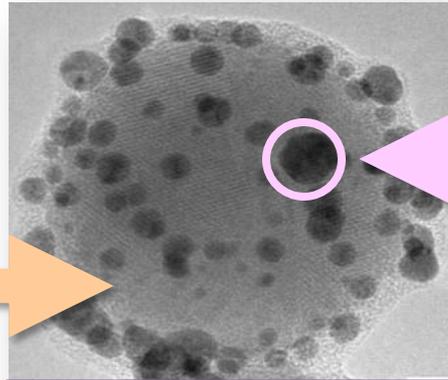
- ✓ Super Paramagnetic Iron Oxide (SPIO) nanoparticles modified with carboxydextran is now used for Magnetic Resonance Imaging for liver cancer.

金磁性複合ナノ粒子とは

酸化鉄粒子

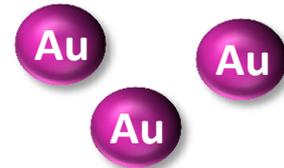


磁性を有する



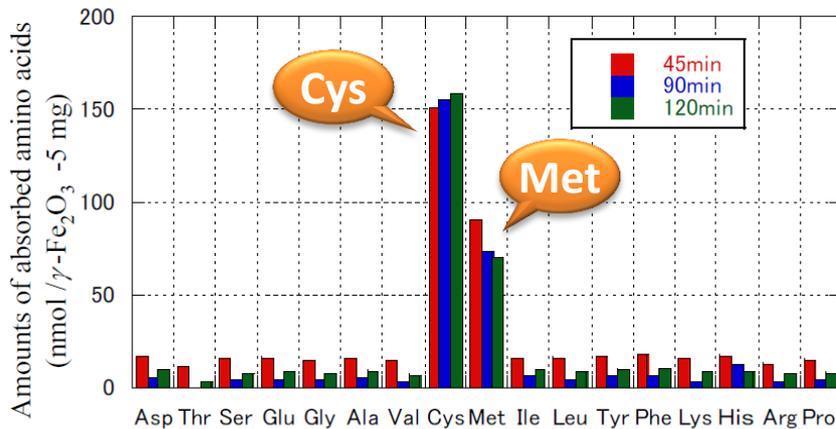
粒子径 10-100 nm

金コロイド



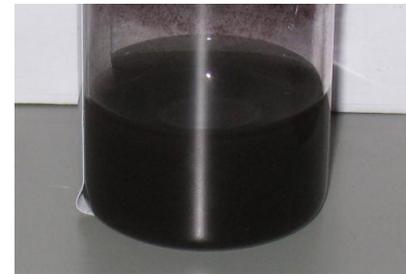
含硫アミノ酸と強固に結合できる (Au-S結合)

● 結合性

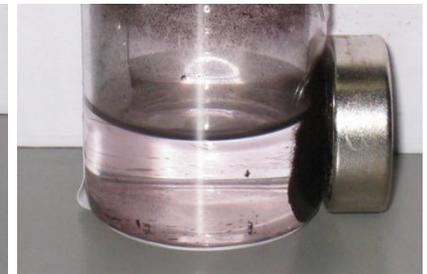


CysteineとMethionineに特異的に結合可能

● 磁性



通常状態



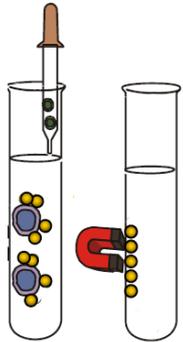
磁石で回収した状態

粒子の挙動を磁石により制御可能

結合させた物質の挙動を磁力により制御可能な複合粒子

金磁性複合ナノ粒子の利点

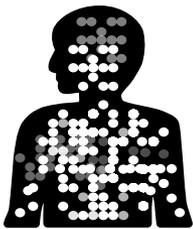
磁性ビーズの応用



in vitro

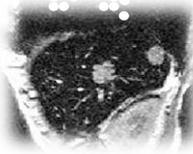
- ・細胞分離回収ツール
- ・DNA精製ツール
- ・磁気分離カラム
- ・他

Genomics & Proteomics



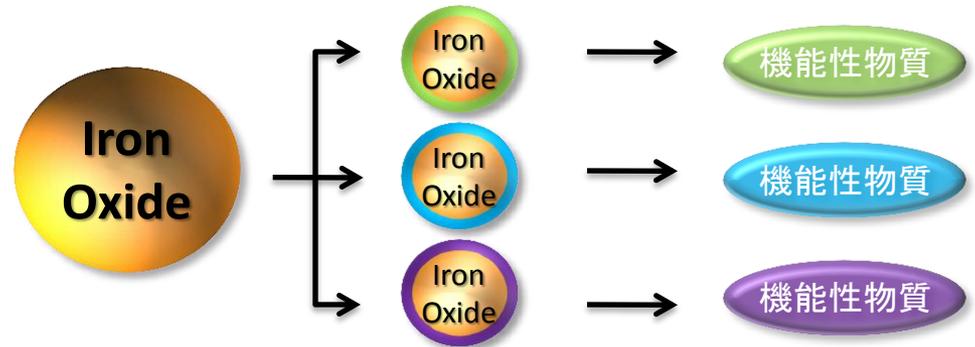
in vivo

- ・MRI造影剤
- ・がん温熱療法
- ・DDSキャリア
- ・他



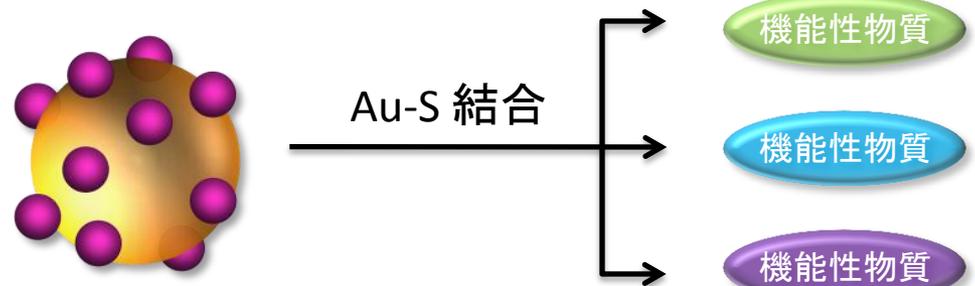
Therapy & Diagnosis

従来の磁性ビーズ(酸化鉄粒子)



- ・目的に応じた表面改善が必要

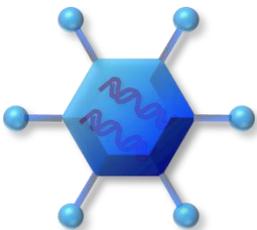
金磁性複合ナノ粒子



- ・Au-Sというシンプルな反応で多くの物質と結合
- ・Sは多くの蛋白質に含まれ、化学合成でも汎用

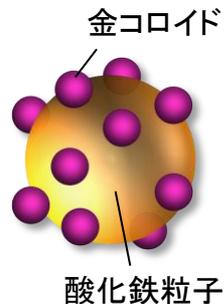
金磁性複合ナノ粒子による新規遺伝子導入法

アデノウイルスベクター (Ad)



- ▲ 高い遺伝子導入効率を誇る遺伝子導入用ベクター
- ▲ **CAR 低発現細胞への適用が困難**

* CAR: Coxsackievirus and Adenovirus Receptor

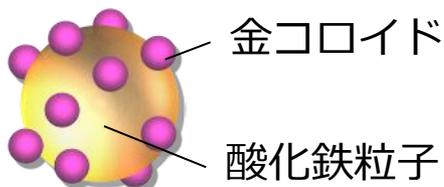


金磁性ナノ粒子

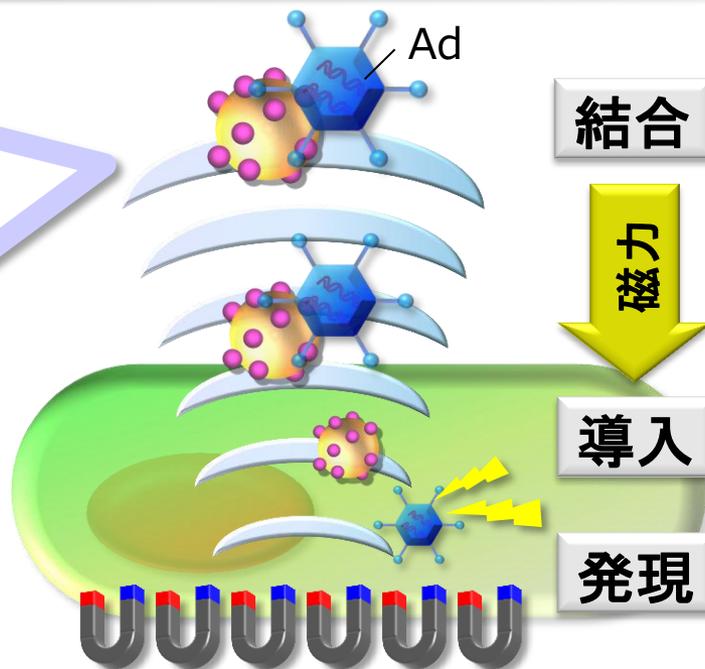
- ▲ 金を介して蛋白質中のCys, Metと**Au-S結合**を形成
- ▲ 酸化鉄由来の**磁性**によって挙動を制御可能

金磁性ナノ粒子による細胞内物質送達技術

金磁性ナノ粒子



- ▶ 金と蛋白質の強固な**結合**
- ▶ 酸化鉄粒子由来の**磁性**



結合

1. 複合体を形成
(**Au-S結合**を利用)

磁力

2. 磁力により細胞表面に集積(**磁性**を利用)

導入

3. 物理的に細胞内へ

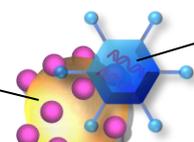
発現

4. 効率的な遺伝子発現

磁力によりCAR低発現細胞にもAdを適用できるのでは！？

Ad抵抗性細胞に対する遺伝子発現の向上

金複合
ナノ粒子



GFP搭載
Ad
(1×10^8 vp)

1hr

B16BL6細胞

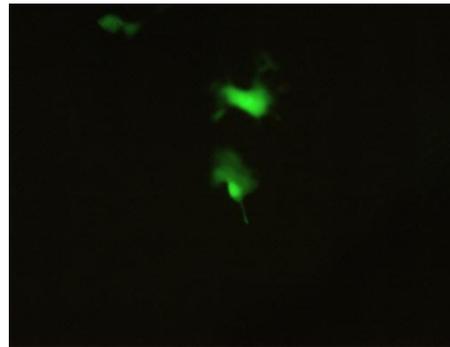


24 hr 37°C
インキュベーション

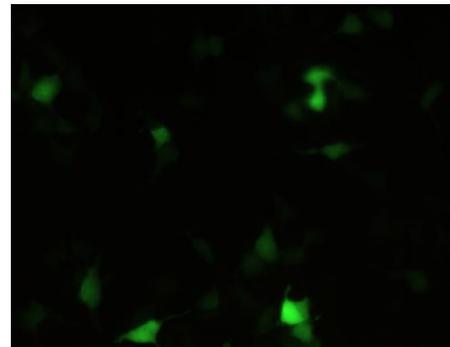
細胞内で発現したGFPを
蛍光顕微鏡で観察



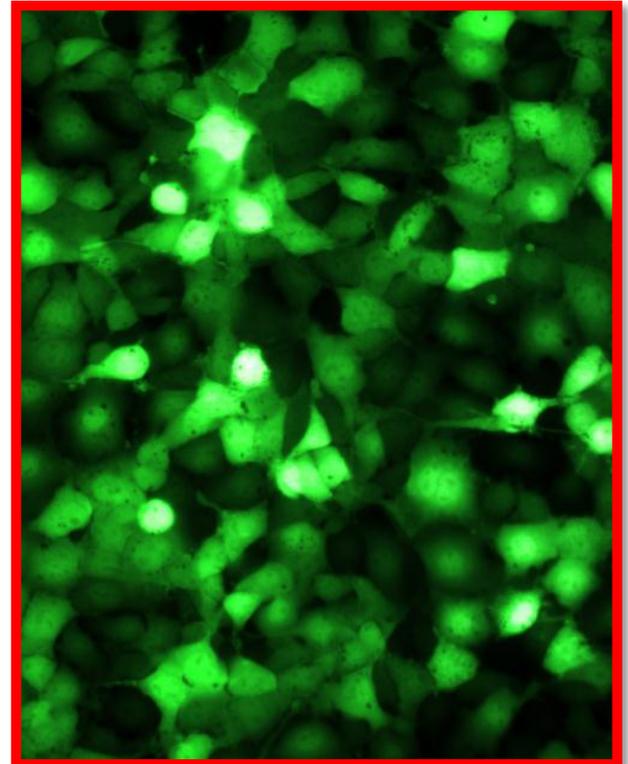
(緑色: 遺伝子導入細胞)



Ad単独



Ad/金磁性ナノ粒子
磁力なし

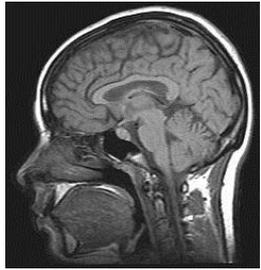


Ad/金磁性ナノ粒子
磁力あり

CAR低発現細胞に対する遺伝子導入効率
を飛躍的に向上可能

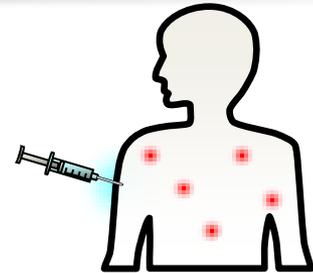
MRI造影剤としての酸化鉄ナノ粒子

● Magnetic Resonance Imaging (MRI)



放射線被曝がなく安全
外科的手術が不要
非侵襲的に病変を診断可能
臨床現場で広く普及

造影剤投与



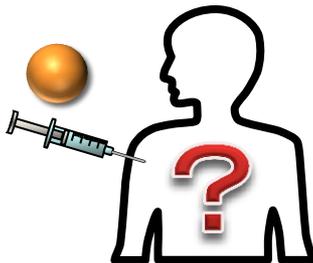
腫瘍の早期診断に貢献

● 磁性酸化鉄ナノ粒子 (SPIO)

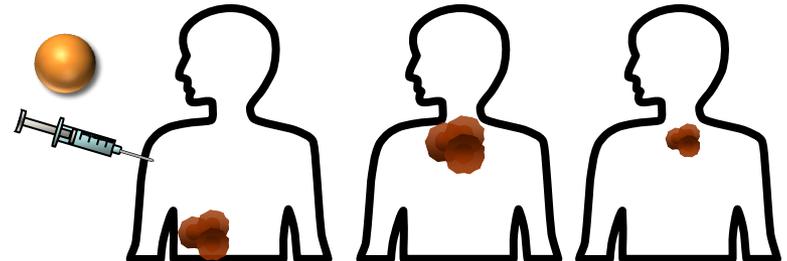
- ▶ 安全かつシャープな造影能力をもつ
(画像上黒く造影)
- ▶ 腫瘍特異的な移行能はない

高精度な腫瘍診断に向けて・・・

腫瘍特異的な移行能を
付与する必要がある



様々な腫瘍の検出は困難

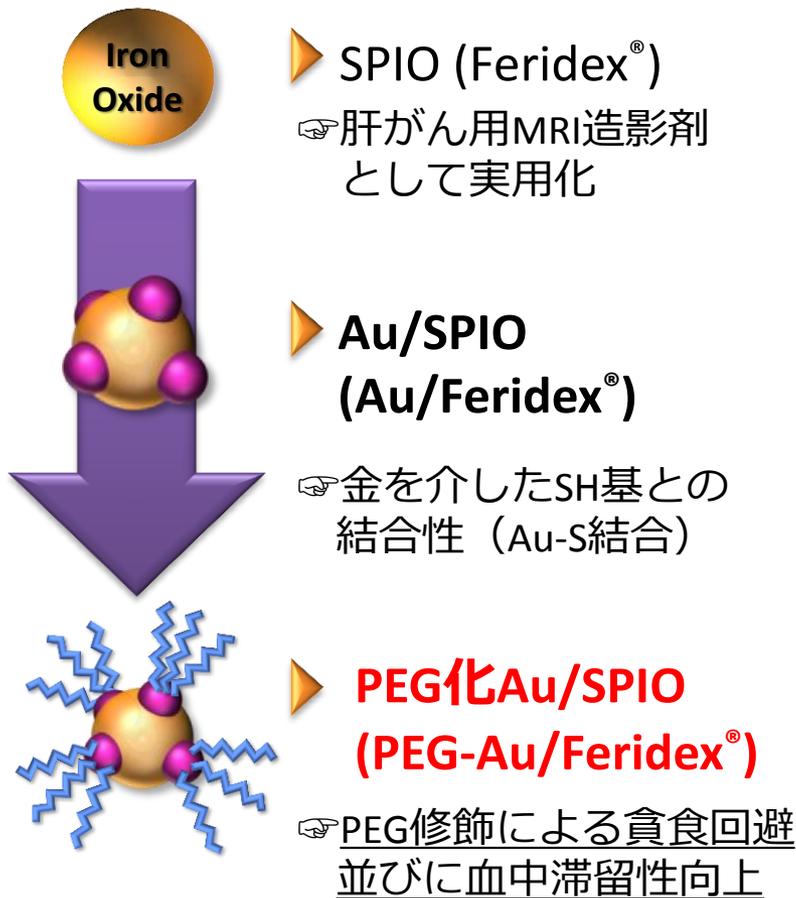


様々な腫瘍を高感度に検出可能！

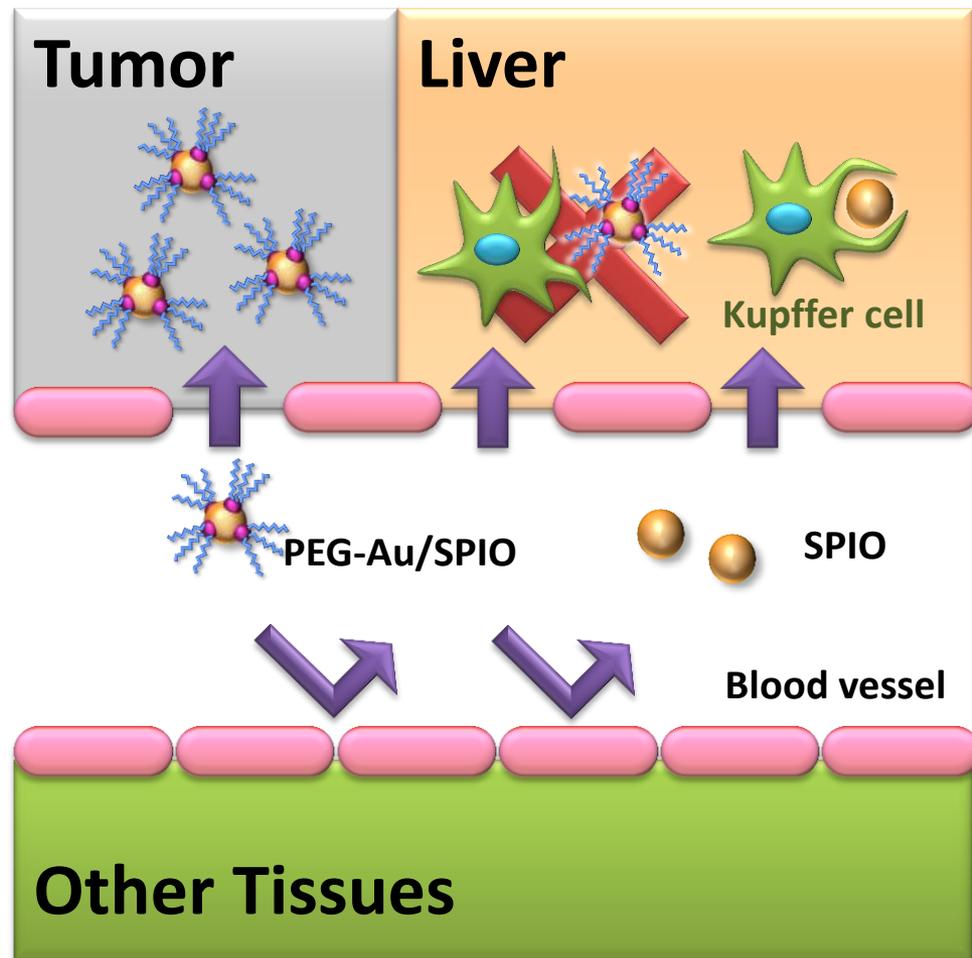
磁性酸化鉄ナノ粒子を腫瘍へ送り届けることができれば
有効な腫瘍造影剤となり得る

PEG化金複合ナノ粒子のMRI造影剤への展開

●腫瘍ターゲティングSPIOの 粒子設計

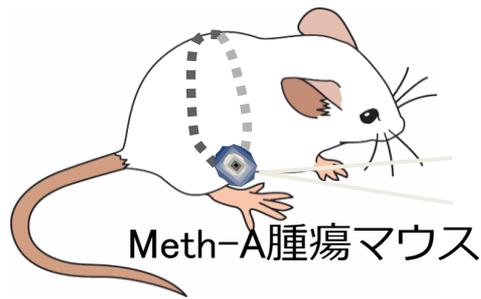


●Enhanced Permeability and Retention Effect (EPR効果)

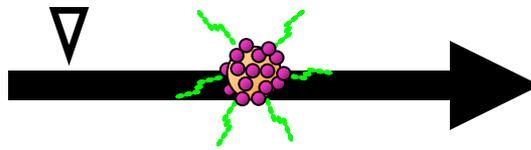


造影剤粒子の腫瘍への選択的な集積が期待できる

MRI造影剤のIn-vivo試験結果の紹介

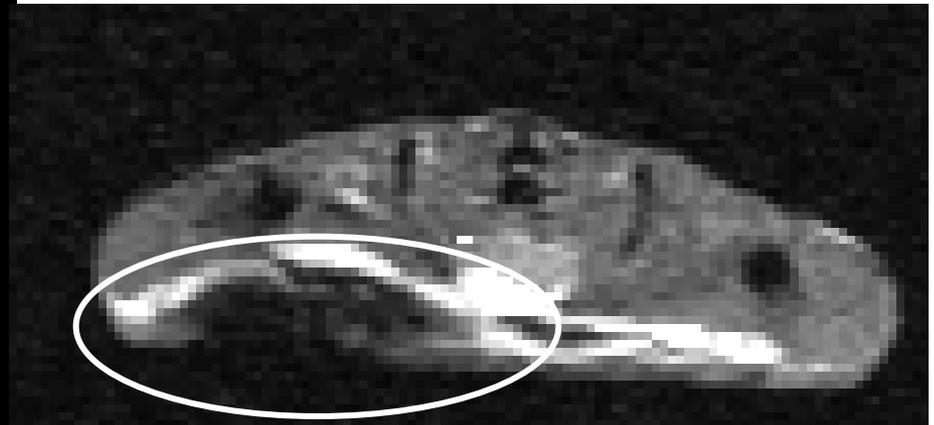
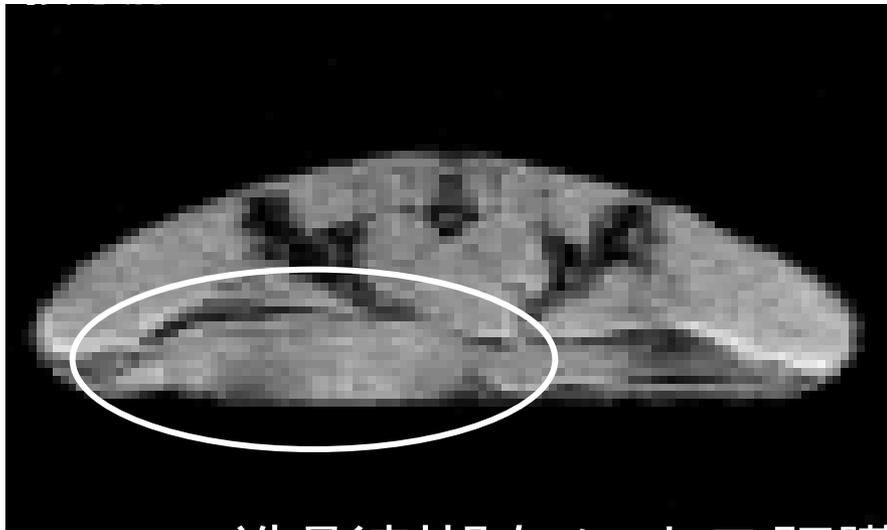


PEG化金磁性ナノ粒子投与



1時間後

MRIによる画像化



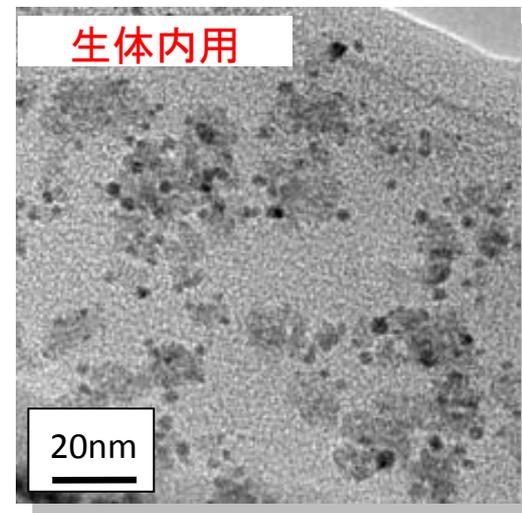
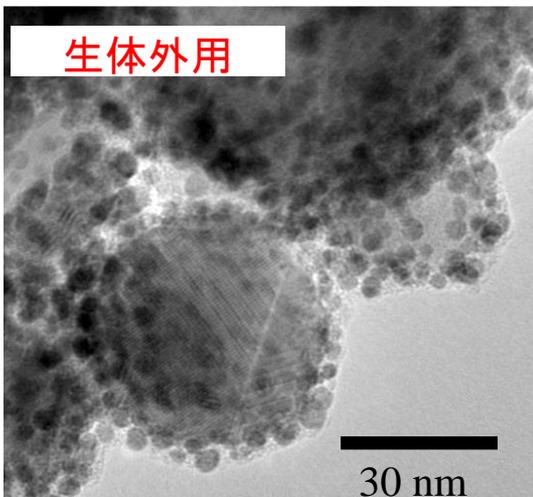
腫瘍ターゲティング性能の付与へと展開中

まとめ：金磁性複合ナノ粒子のバイオ分野への応用

放射線還元法により、種々の磁性粒子表面に
金ナノ粒子を担持可能

- 金の表面特性の活用(Au-S結合)
- 水溶液プロセス & 生体適合性良好 & 分散性良好
- 生体内外での応用で優れた性能
- 大量合成展開可……が、活かされてない。

(市販品で、0.1mg/キット程度→カート1台で約1万キット！)



繊維への銀ナノ粒子担持
による
抗菌製品への応用

研究目的: 繊維への銀担持加工技術へと展開

水溶液中における銀の還元反応式

$$\text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{e}_{\text{aq}}^-, \text{H}^\cdot, \text{OH}^\cdot, \text{etc.}$$

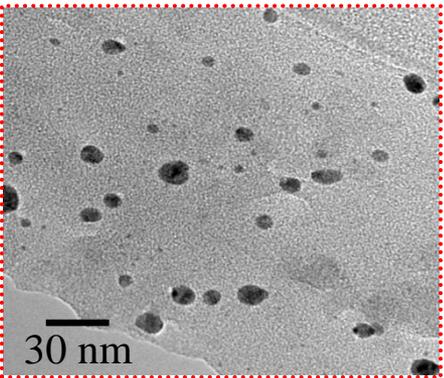
$$\text{Ag}^+ + (\text{e}_{\text{aq}}^-, \text{H}^\cdot, \text{R}^\cdot\text{-OH}) \longrightarrow \text{Ag}^0_{\text{metal}}$$

- 水の放射線分解により還元種が生成
- 銀イオンが還元され金属銀ナノ粒子ができる
- 金属銀ナノ粒子が繊維表面に直接固定化される



放射線照射

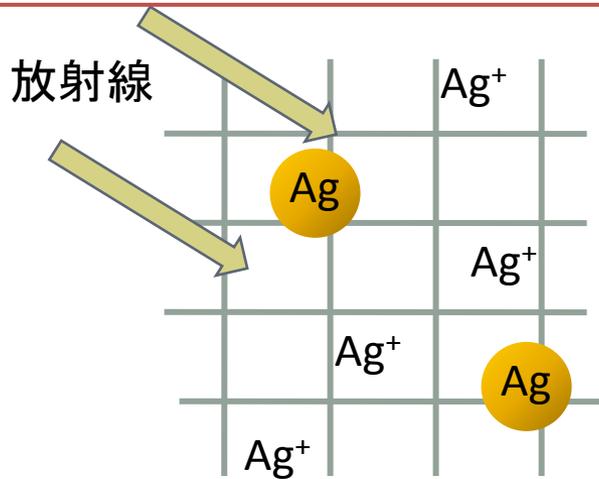
ガンマ線 or
加速器電子線



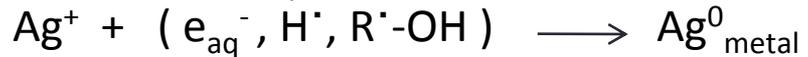
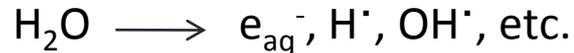
※デモとして銀を過剰に担持

※銀ナノ粒子は黄色を呈する

研究目的：繊維への銀担持加工技術へと展開



水溶液中における銀の還元反応式



- 水の放射線分解により還元種が生成
- 銀イオンが還元され金属銀ナノ粒子ができる
- 金属銀ナノ粒子が繊維表面に直接固定化される

放射線還元法による繊維への銀ナノ粒子担持処理について、以下の評価を行った。

- ✓ 抗菌性能（菌スペクトル&洗濯耐久性）
- ✓ 安全性（皮膚貼り付け試験&有害金属含有試験）
- ✓ 繊維表面に担持した銀の化学状態
- ✓ 適用可能な繊維種

実験手順

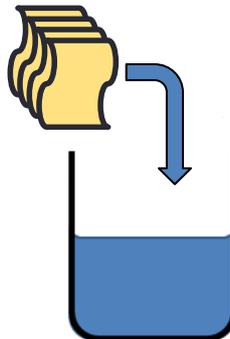
- マイクロファイバー
(ポリエステル80%/ナイロン20%)

- 綿
- レーヨン
- キュプラ
- ウール
- ナイロン66
- アクリル
- ポリプロピレン
- ポリエステル

前洗浄済

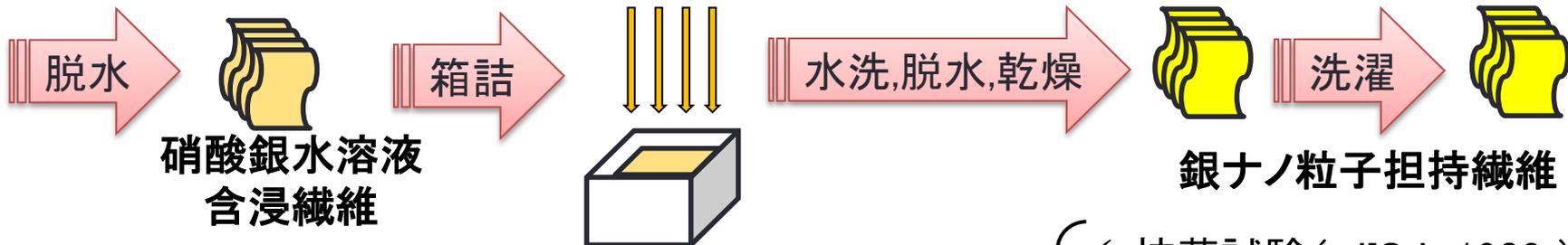
水洗 15分
脱水 7分
乾燥

繊維



銀イオン水溶液
0.5 ~ 2 mMに調整

繊維一枚 (20 g程度)
当たり 500 ml



両面照射

日本電子照射サービス(株)
加速エネルギー: 4.8 MeV
表面線量: 20 kGy × 2
(表、裏両面)

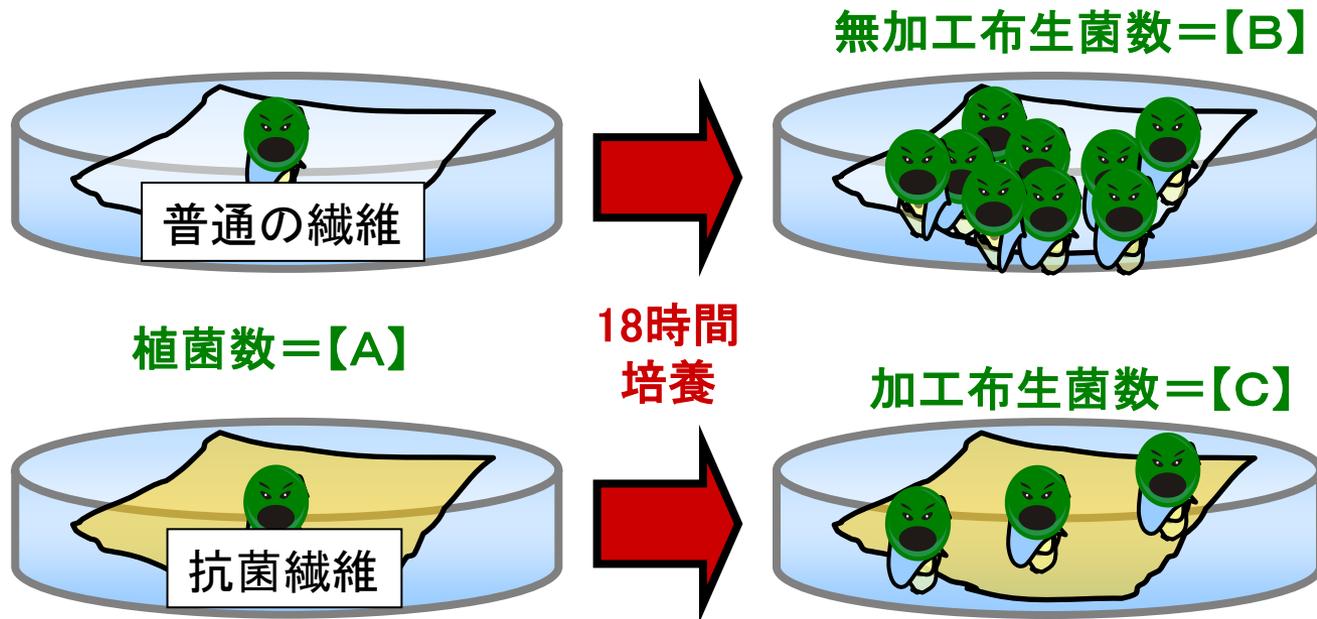
銀ナノ粒子担持繊維

- ✓ 抗菌試験 (JIS L 1902)
- ✓ XAFS測定 (NW10A@KEK)
- ✓ 銀担持量測定 (ICP)

※医療器具の滅菌と同程度の線量

特性評価：静菌活性値／殺菌活性値

JIS L 1902「繊維製品の抗菌性試験方法・抗菌効果(定量試験)」

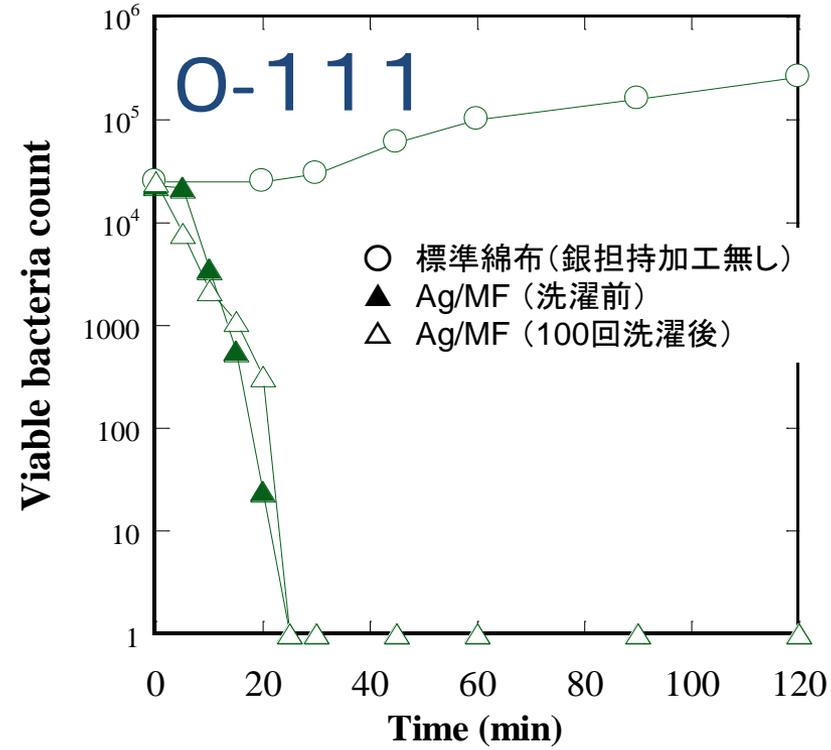
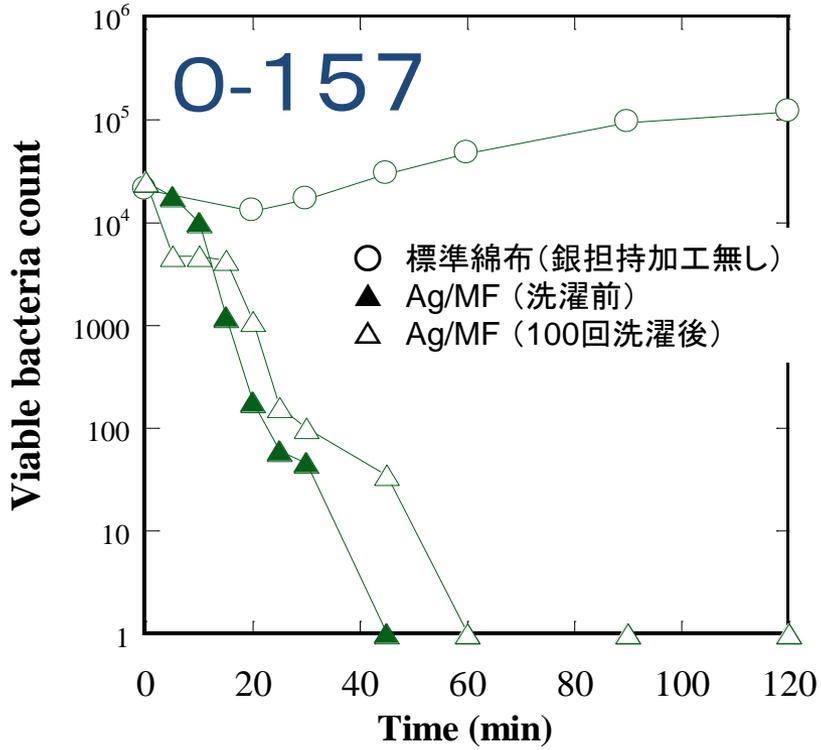


静菌活性値 = $\log[B] - \log[C]$ (2.2以上で効果あり)

殺菌活性値 = $\log[A] - \log[C]$ (0以上で効果あり)

結果 & 考察 抗菌性能 / 【生菌数】 vs 【培養時間】

試験布 : Ag担持マイクロファイバー (ポリエステル80% / ナイロン20%)
試験菌種 : 大腸菌O-157、O-111
試験方法 : 菌液吸収法、培養0~120分、生菌数評価



- 大腸菌O-157, O-111は1時間以内で検出限界以下に。
- 100回洗濯後もその性能は殆ど低下していない。

結果 & 考察 抗菌性試験結果／【菌スペクトル】

試験布： Ag担持マイクロファイバー（ポリエステル80％／ナイロン20％）
 試験菌種： 黄色ブドウ球菌、肺炎桿菌、MRSA、大腸菌、緑膿菌、サルモネラ菌、
 腸炎ビブリオ、セレウス菌
 試験方法： JIS L 1902 定量試験、静菌活性値評価（抗菌防臭SEK:2.2以上で効果有）

表 放射線還元法で得た銀担持繊維の100回洗濯前後の静菌活性値

	黄色 ブドウ球菌	肺炎 かん菌	MRSA	大腸菌	緑膿菌	サルモネ ラ菌	腸炎 ビブリオ	セレウス菌
本技術 洗濯前	≥ 5.5	≥ 6.5	≥ 5.5	≥ 6.4	≥ 5.7	≥ 6.0	≥ 5.4	3.5
本技術 洗濯100回後	≥ 5.5	≥ 6.5	≥ 5.5	≥ 6.4	5.3	5.3	≥ 5.4	3.4
(参考)市販品 洗濯前	≥ 4.7	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block;"> 黄色： 菌数が検出限界以下 </div>						
(参考)市販品 洗濯10回後	3.2							

抗菌性試験 JIS L 1902 定量試験
 （菌液吸収法）
 洗濯方法 JIS L 0217 103 号準拠 吊干し
 （JAFET 標準洗剤使用）

*参考データは他社ホームページ公開情報から引用

- 幅広い菌種に対し抗菌性/殺菌性を示す
 （※芽胞状態の菌には効果低）
- 100回洗濯後にも性能を維持

結果 & 考察 安全性確認試験

■閉鎖性皮膚貼布試験（株式会社生活科学研究所）

無加工品・加工品（洗濯なし）ともに、被験者20名全員に皮膚反応の変化は全く無く、無刺激性（陰性）と判定。

■食品衛生法食品、添加物等の規格基準（財団法人日本紡績検査協会）

1. カドミウムおよび鉛

カドミウム・・・適合：基準値（100 $\mu\text{g/g}$ ）以下（定量下限（0.1 $\mu\text{g/g}$ ）以下）

鉛・・・適合：基準値（100 $\mu\text{g/g}$ ）以下（定量下限（2 $\mu\text{g/g}$ ）以下）

2. 重金属

重金属・・・適合：基準値（鉛として1 $\mu\text{g/ml}$ ）以下

3. 有機物含有量試験

過マンガン酸カリウム消費量・・・不適合（32.2 $\mu\text{g/ml}$ ）：基準値（10 $\mu\text{g/ml}$ ）

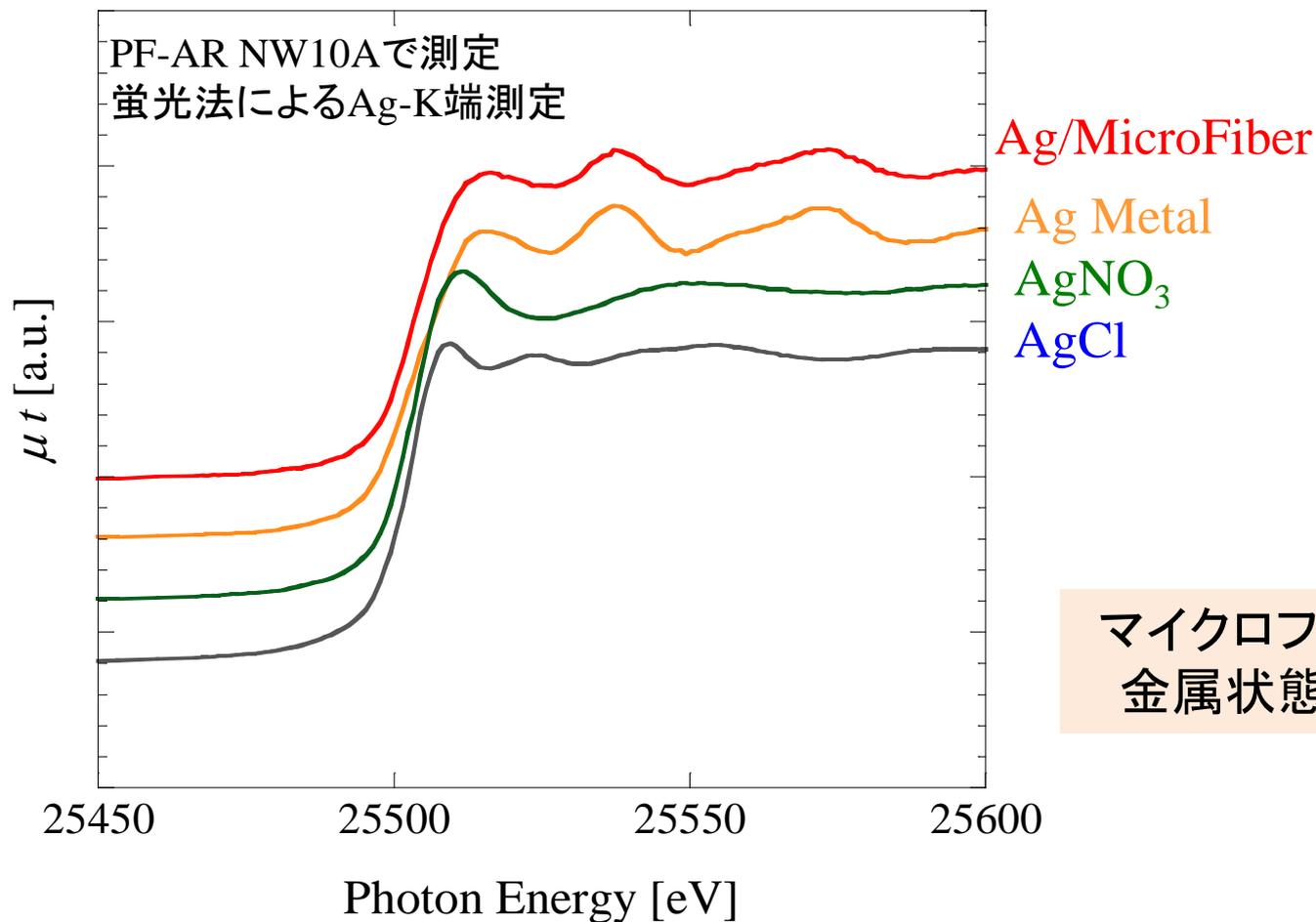
※ 食品そのものの基準としては不適合と判定されるが、子供用玩具等の基準値（50 $\mu\text{g/ml}$ ）には適合。

➤ 本技術による銀ナノ粒子担持繊維の安全性は高い

結果 & 考察 銀化学状態の同定 (XANES解析)

試験布 : Ag担持マイクロファイバー (ポリエステル80%/ナイロン20%)

標準試料 : Ag Metal, AgNO₃, AgCl, AgO, Ag₂O, Ag₂S etc.

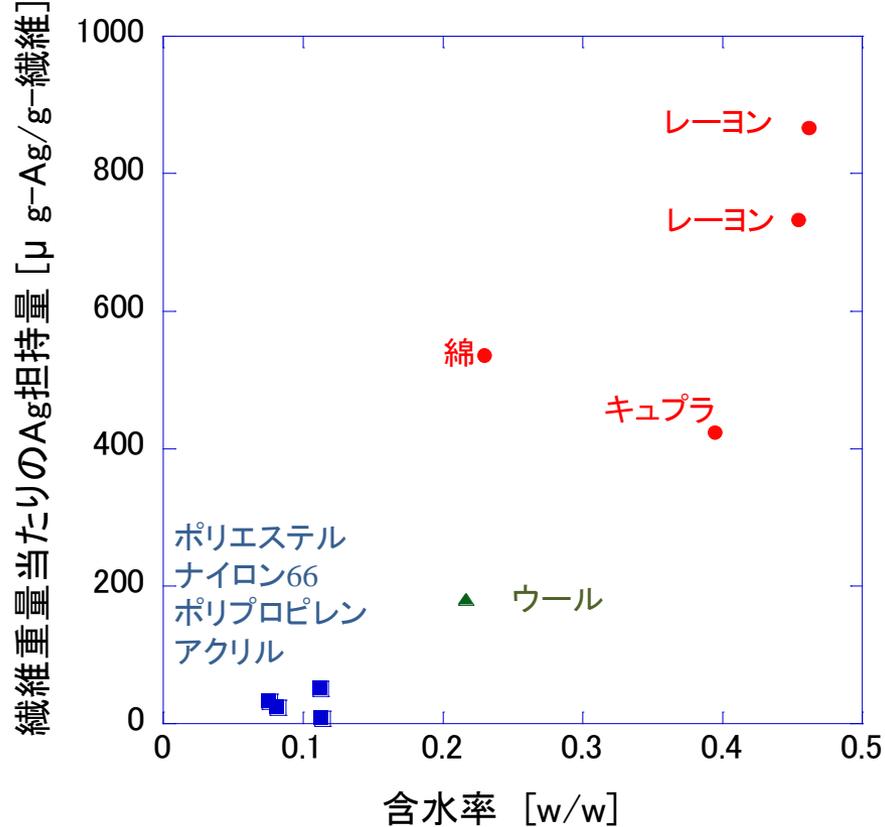


標準試料のスペクトルと
比較することで、
繊維表面の銀化学種を
同定することが可能

マイクロファイバー繊維表面に
金属状態の銀の存在を確認

結果 & 考察 適用可能な繊維種について

繊維種とAg担持量の関係



種々のAg担持繊維の抗菌性能

試料		静菌活性値
綿	1洗後	≥ 5.5
	100洗後	≥ 5.5
ナイロン	1洗後	≥ 5.5
	100洗後	≥ 5.5
ポリエステル	1洗後	≥ 5.5
	100洗後	≥ 5.5
マイクロファイバー (PET/ナイロン)	1洗後	≥ 5.5
	100洗後	≥ 5.5

JIS L 1902 (黄色ブドウ球菌、培養18時間)

- 銀担持量は繊維の含水率に依存する傾向
- 銀担持量が少ない繊維でも、高い抗菌活性を示す
- 天然繊維・合成繊維を問わず、幅広く適用可能

Ag Bullet™

※現段階で事業化している製品の例です。

大阪大学共同研究商品

超抗菌マイクロファイバークロス

Ag Bullet™

繊維上の無数の銀ナノ粒子が、雑菌の細胞組織を攻撃

大阪大学
特許技術を事業化

強力な
拭き取り性能

食中毒原因菌やMRSAにも
抜群の抗菌効果

環境負荷の
大幅な低減

- ✓ 本商品はマイクロファイバークロスを使用しています。マイクロファイバーのバйлを構成している糸は、約50本の繊維の集合体であり、その1本1本の繊維を約16分割させて作られる超微細構造を有しています。通常の綿フキン等と比べ、非常に優れた拭き取り性能を示します。
- ✓ 大阪大学の特許技術により、銀のナノ粒子体をクロスに強固に結合させています。テーブルや食器、厨房の食中毒の原因となる大腸菌やサルモネラ菌等を微細繊維が掻きとった後、クロスに結合した銀による攻撃を受けて死滅します。食中毒の発生・拡大・連鎖メカニズムの1つである、クロス及び使用者の手を経由する危険をシャットアウトします。
- ✓ 銀は古くから食器やスプーンに使用されている安全な金属です。「Ag Bullet™」は、皮膚刺激性や食品添加物試験等をクリアした安全なクロスです。
- ✓ 「Ag Bullet™」上での、インフルエンザウィルス及びノロウィルスの感染抑制効果も実証しております。
- ✓ 衛生管理に配慮する手段として、使い捨ての不織布ワイパーを使用されている場合、本商品に切り替えるだけで、大幅な環境負荷低減に繋がります。

素材：ポリエステル 80% ナイロン 20%
規格：30cmx30cm (約 24g)
カラー：グレー・ブルー・ライトグリーン・オレンジイエロー

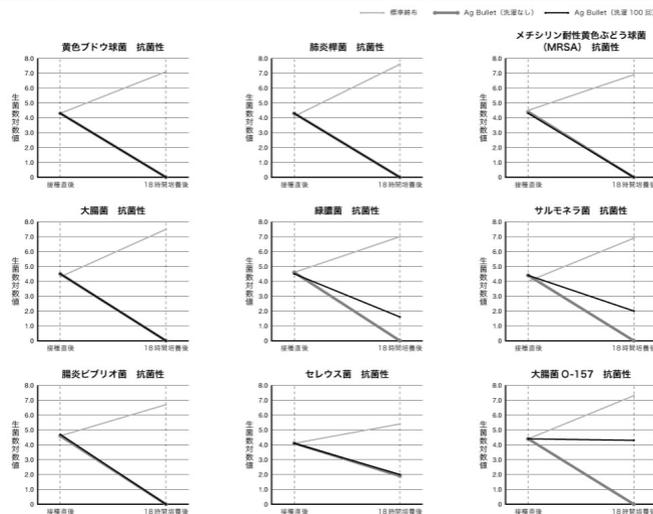


製造販売元 (株)アクト・ノンパレル

石川県かほく市大崎ニ8番地
お問合せ先 (株)ケイ・エス・ブレインズ tel.076-283-6477

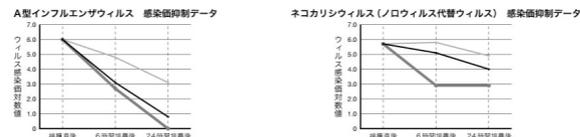
A. 抗菌性試験

大阪大学 ※O-157のみ財団法人日本食品分析センター



B. ウィルス感染抑制試験

財団法人北里環境科学センター



C. 安全性確認試験データ

C-1. 閉鎖性皮膚貼布試験 株式会社生活科学研究所

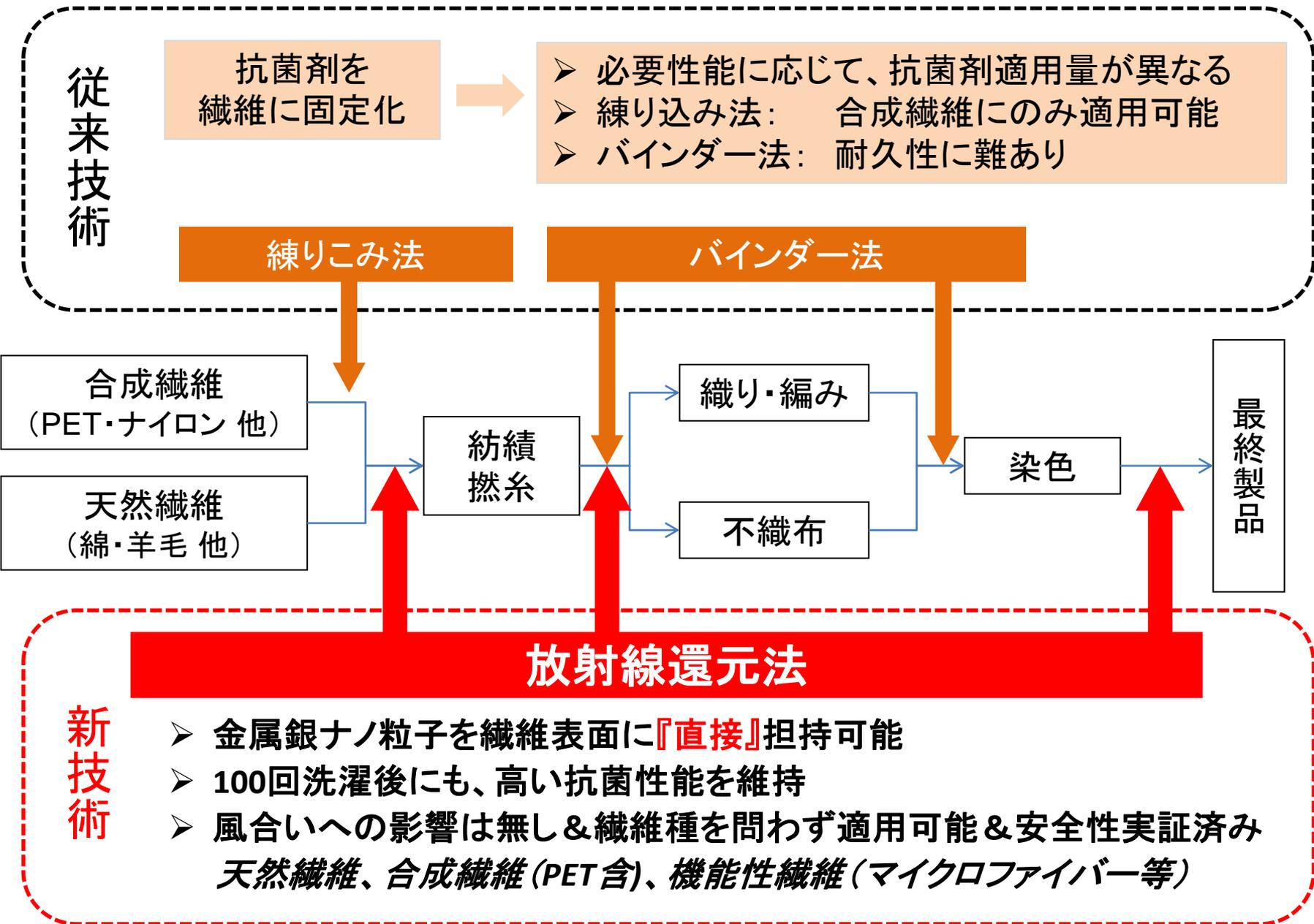
無加工品・加工品 (洗濯なし) とともに、被験者 20 名全員に皮膚反応の変化は全く無く、無刺激性 (毒性) と判定

C-2. 食品衛生法食品、添加物等の規格基準 財団法人日本紡績検査協会

項目	試験項目	結果	基準値
1. カドミウム及び鉛	カドミウム	適合	基準値 (100µg/g) 以下 (定量下限 (0.1µg/g) 以下)
	鉛	適合	基準値 (100µg/g) 以下 (定量下限 (2µg/g) 以下)
2. 重金属	重金属	適合	基準値 (鉛として 1µg/m l) 以下
	3. 有機物含有量試験	過マンガン酸カリウム消費量	不適合

➤ 大量処理可能であることを実証済み (10,800枚/Lot)
(※銀イオン水溶液約1トン使用)

まとめ ～放射線還元法の技術的位置づけ～



まとめ:

放射線還元法により、ナノバイオや抗菌といった分野で活躍するナノ材料を提供できる。

- それぞれの用途に応じて担体 & 金属の組み合わせ
- 市場投入できることを実証

✓金磁性ナノ粒子 : GoldMAN

→材料面、合成技術としての検討はほぼ終了。
基盤技術として、応用研究を展開する。

✓抗菌繊維 : Silver Bullet

→優れた特性を活かし、マーケティングを進める。
銀還元挙動、担持挙動、材料評価等、課題残