

图 2-9

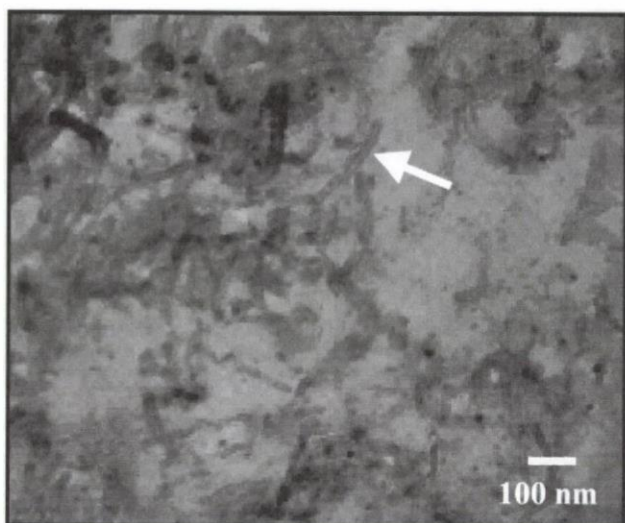


图 2-10



图 2-11

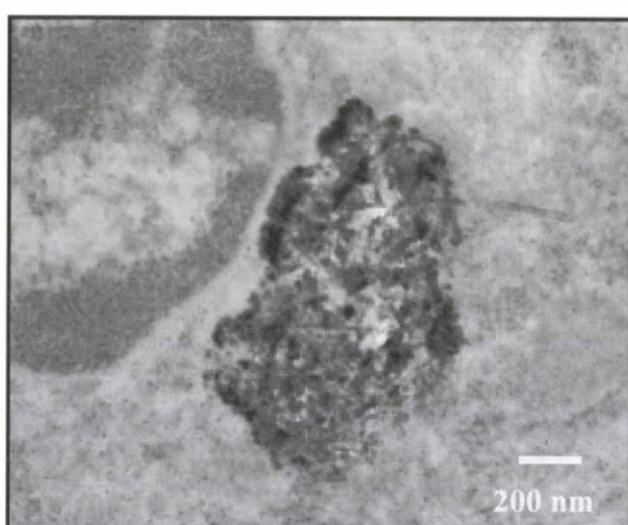


图 2-12

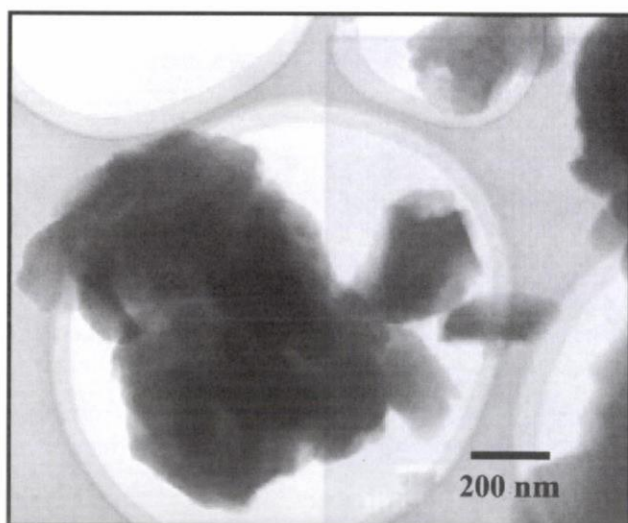


图 2-13

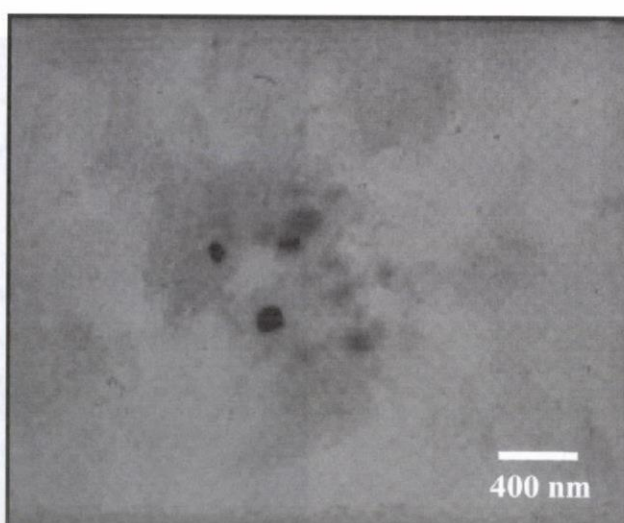


图 2-14

8-3 图

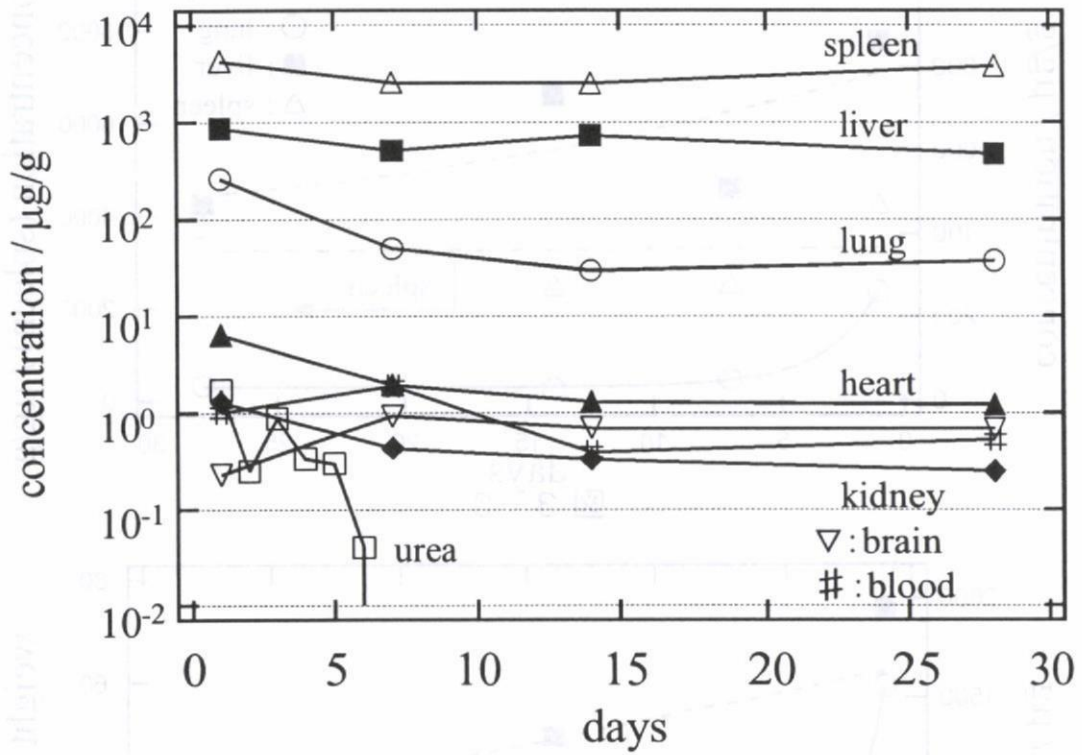


图 3-1

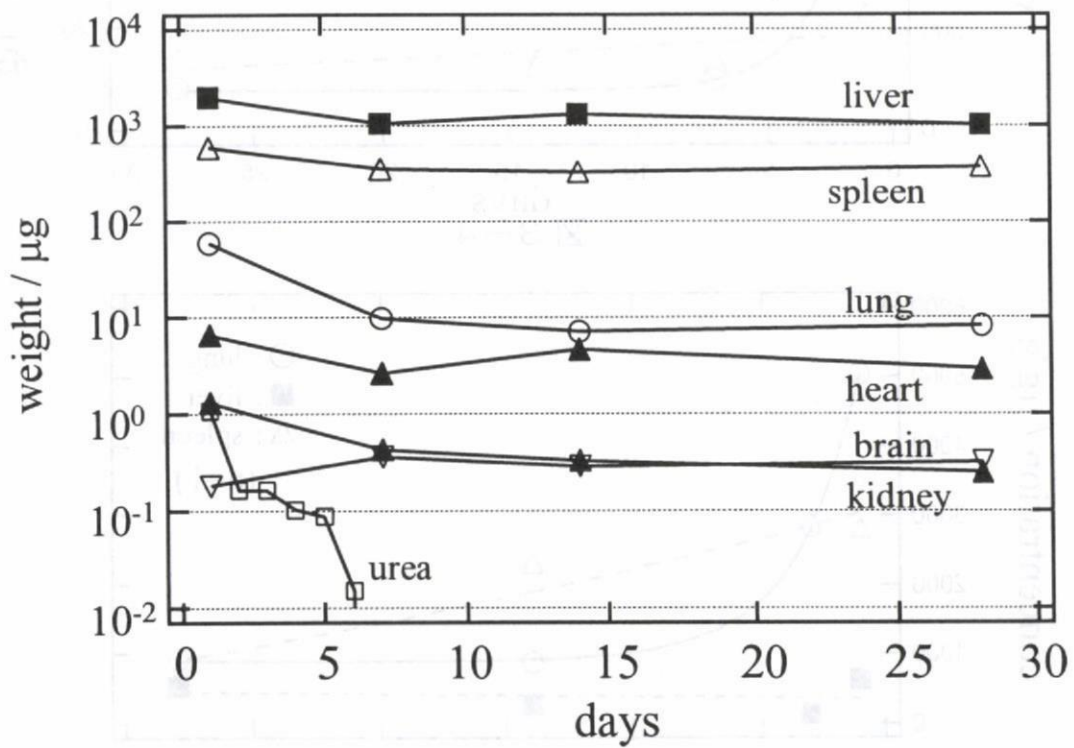
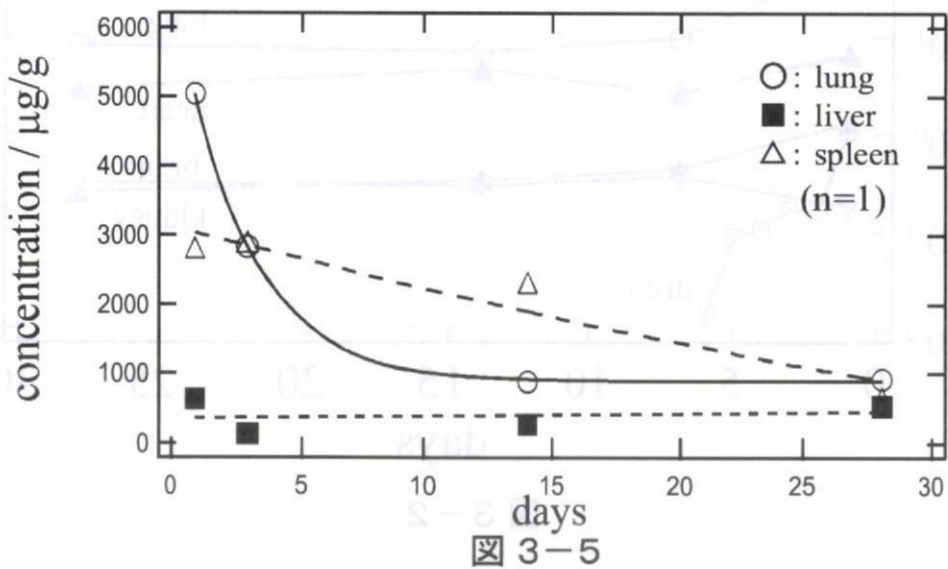
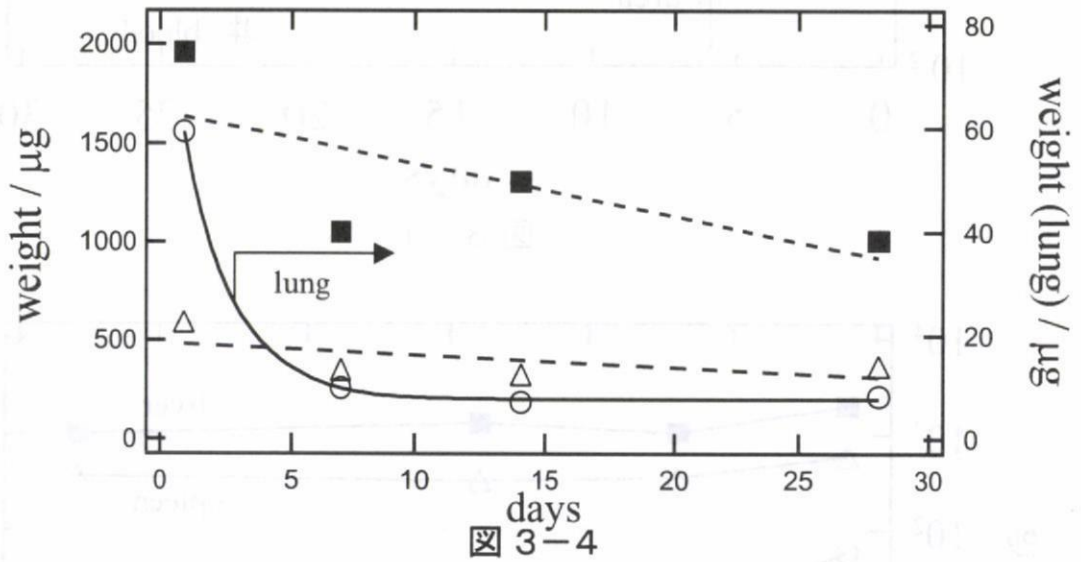
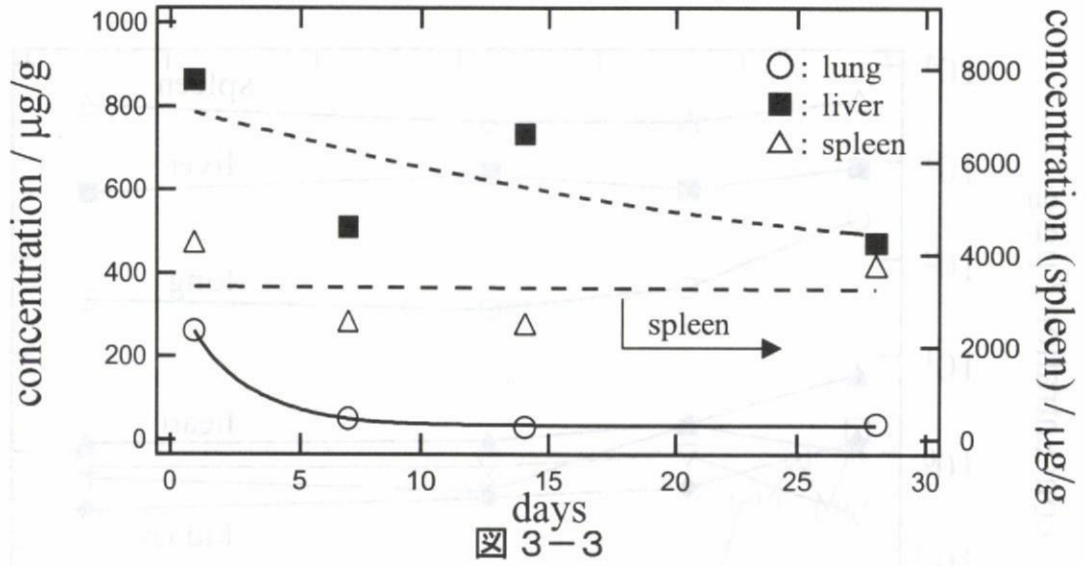


图 3-2





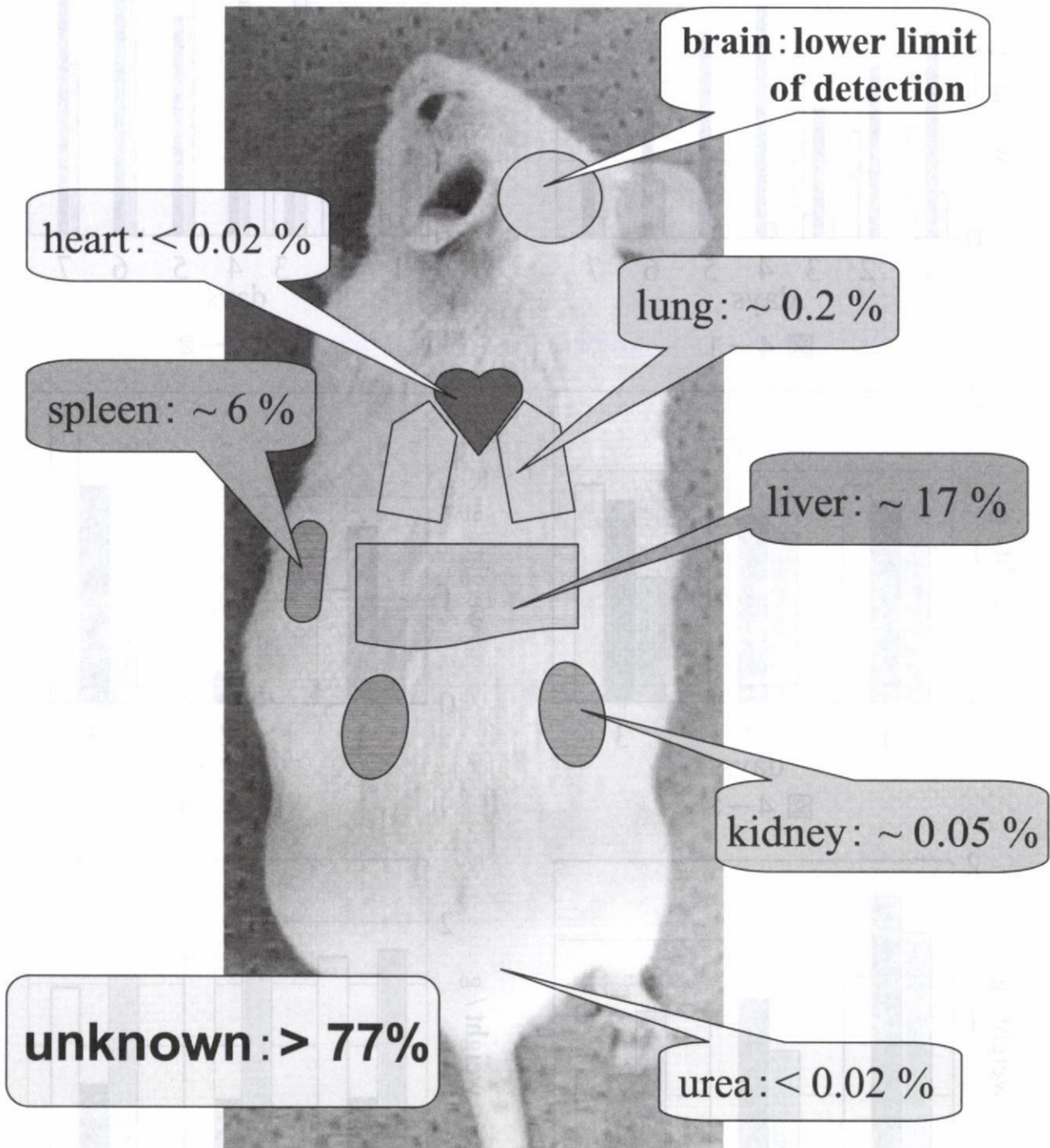
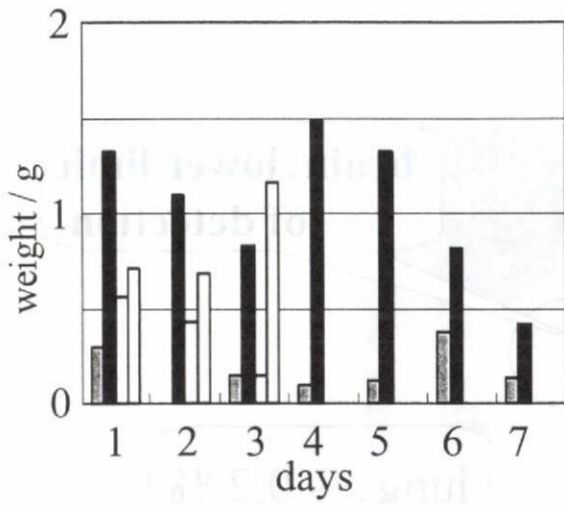
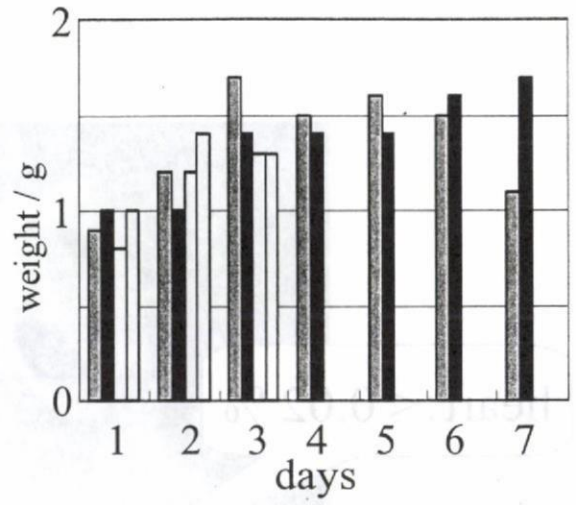


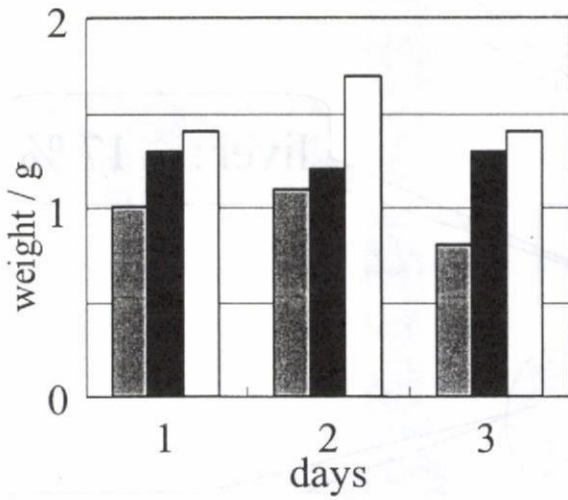
图 3-6



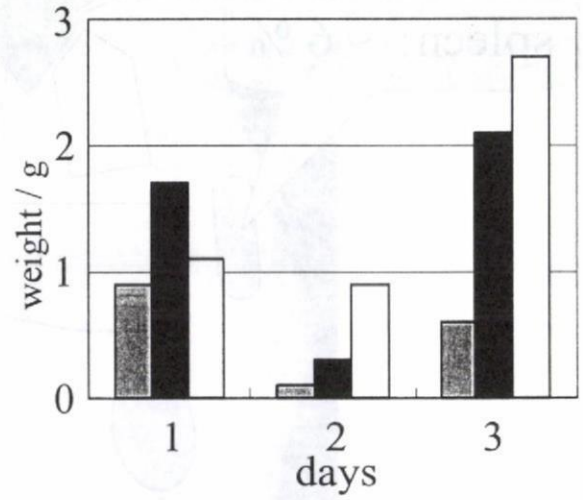
☒ 4-1



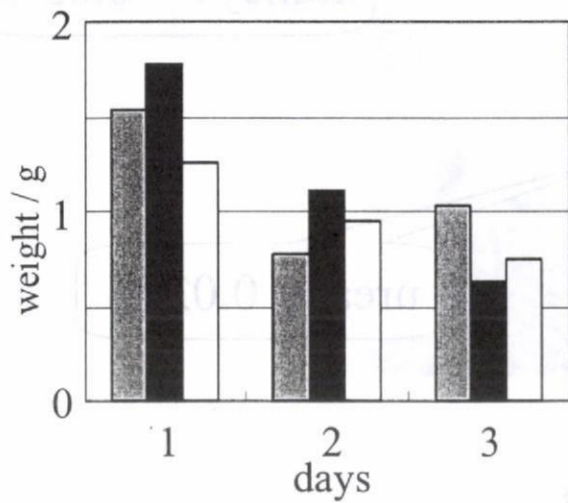
☒ 4-2



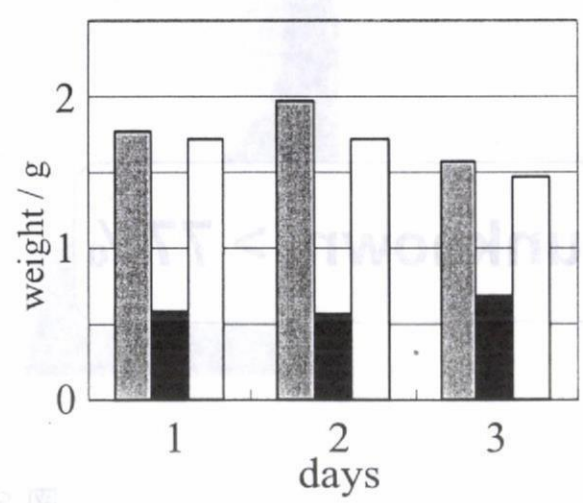
☒ 4-3



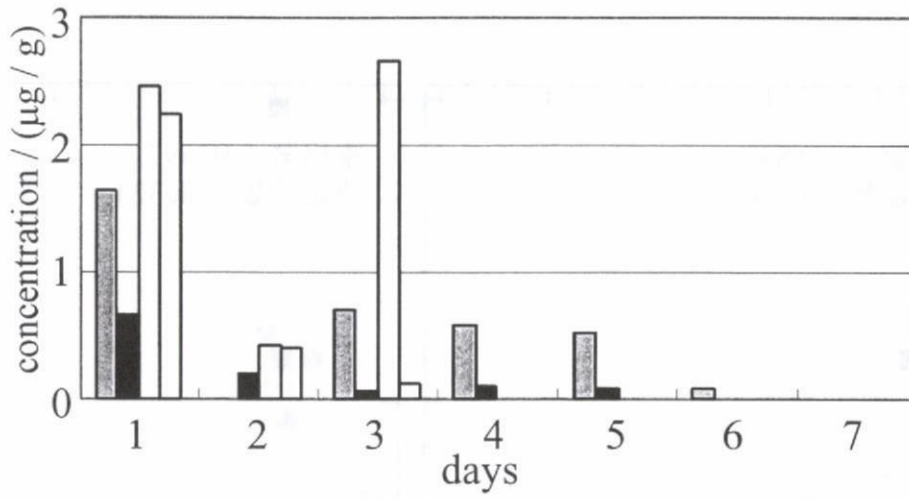
☒ 4-4



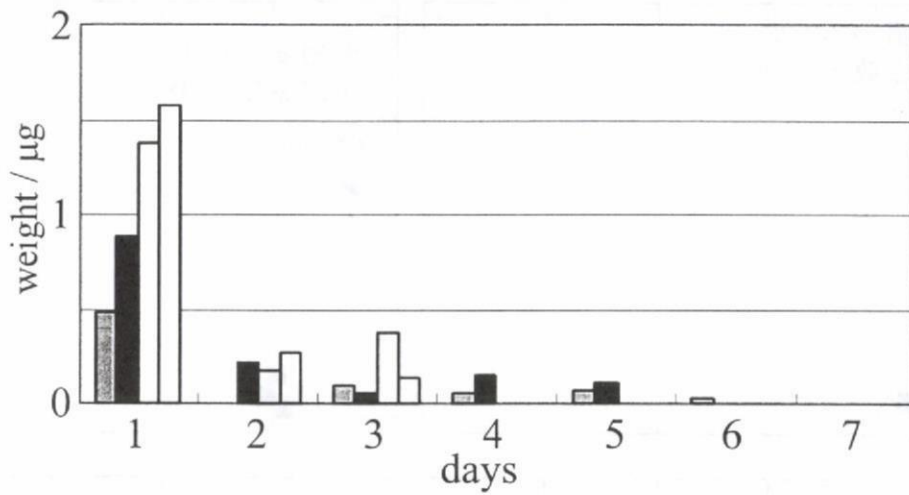
☒ 4-5



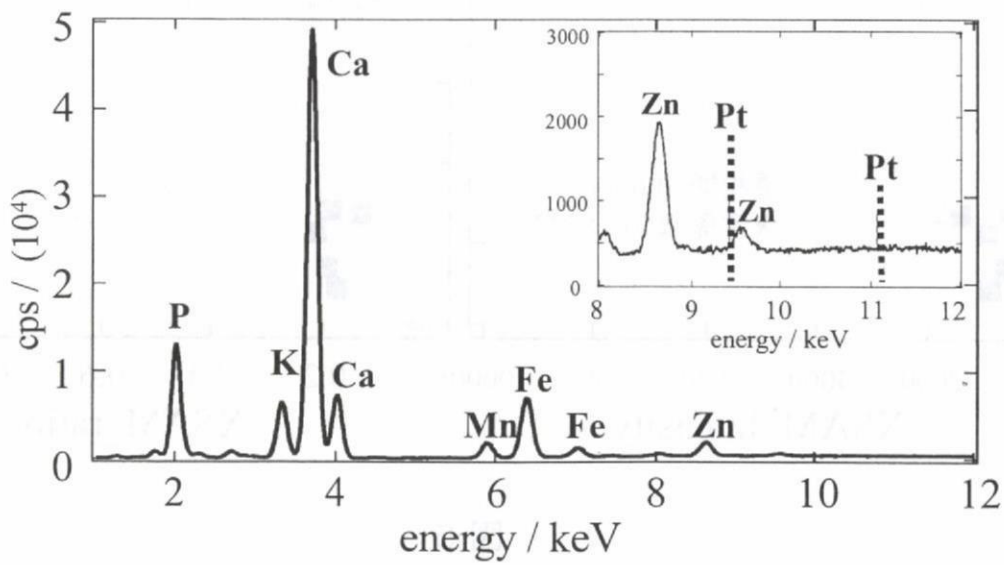
☒ 4-6



☒ 4-7



☒ 4-8



☒ 4-9

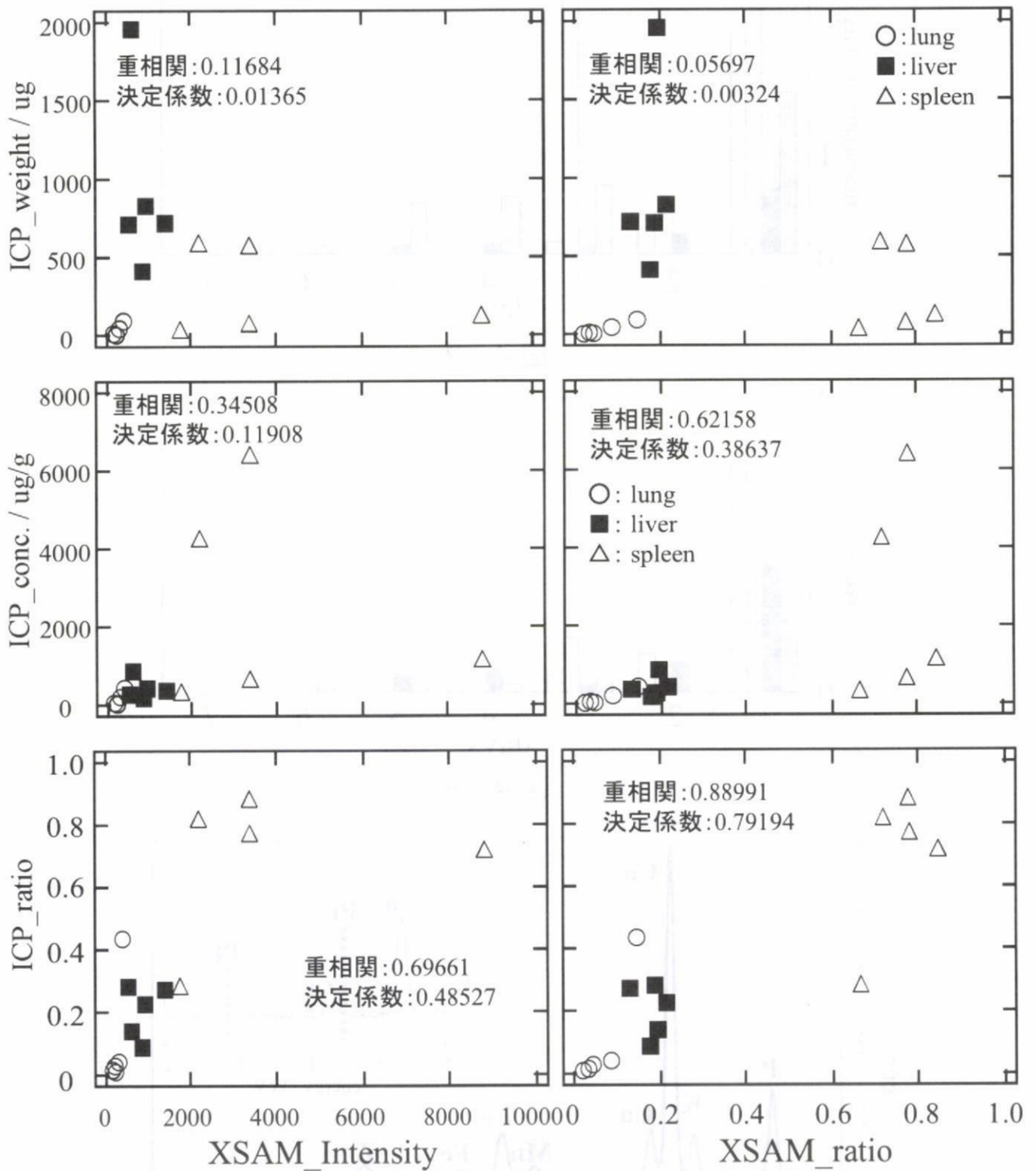


図 5



付図説明

図1-1

ナノマグネタイト投与前後のマウスのMRI像

図1-2

ナノマグネタイト投与後のマウス各臓器でのFe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>の相対比(XSAMにより観察)

図1-3

ナノマグネタイト、Ba-フェライト、Co-フェライト投与前後のマウスのMRI像

図2-1

CNT-COOHの反応スキーム

図2-2

CNTとCNT-COOHとの分散性の比較

図2-3

フラレノール(C<sub>60</sub>(OH)<sub>25</sub>)

図2-4

CNT-COOH投与マウス(一週間後)の肺のTEM像

図2-5

CNT-COOH投与マウス(一週間後)の肝臓のTEM像

図2-6

CNT-COOH投与マウス(一週間後)の脾臓のTEM像

図2-7

CNT-COOH投与マウス(四週間後)の肺のTEM像

図2-8

CNT-COOH投与マウス(四週間後)の肝臓のTEM像

図2-9

sph-CNT(乾燥粉末)のTEM像

図2-10

sph-CNT投与マウス(投与直後)の肺のTEM像

図2-11

sph-CNT投与マウス(一日後)の肝臓のTEM像

図2-12

sph-CNT投与マウス(一日後)の肝臓のTEM像

図2-13

C<sub>60</sub>(OH)<sub>25</sub>(乾燥粉末)のTEM像

図2-14

C<sub>60</sub>(OH)<sub>25</sub>投与マウス(投与直後)の肺のTEM像

図3-1

Pt投与マウスの臓器内濃度の経時変化

図3-2

Pt投与マウスの臓器内重量の経時変化

図3-3

Pt投与マウスの臓器内濃度の経時変化(肺・肝臓・脾臓)

図3-4

Pt投与マウスの臓器内重量の経時変化(肺・肝臓・脾臓)



図3-5

ITO 投与マウスの臓器内濃度の経時変化 (肺・肝臓・脾臓)

図3-6

Pt 投与マウスの体内分布状況の模式図 (投与後1週間)

図4-1

Pt 投与マウスから採取した尿の重量

図4-2

Pt 投与マウスから採取した糞の重量

図4-3

ITO 投与マウスから採取した尿の重量

図4-4

ITO 投与マウスから採取した糞の重量

図4-5

TiO<sub>2</sub> 投与マウスから採取した尿の重量

図4-6

TiO<sub>2</sub> 投与マウスから採取した糞の重量

図4-7

Pt 投与マウスから採取した尿中の Pt 濃度

図4-8

Pt 投与マウスから採取した尿中の Pt 重量

図4-9

Pt 投与マウスから採取した糞中の含有元素分析結果

図5

XSAM-ICP 測定結果の相関図

左上段: Pt 元素からの蛍光 X 線信号の積分強度(XSAM\_Intensity) vs ICP から得られた Pt 重量(Pt\_weight)

左中段: 蛍光 X 線信号の積分強度 XSAM\_Intensity vs ICP から得られた Pt 臓器内濃度(Pt\_concentration)

左下段: 蛍光 X 線信号の積分強度 XSAM\_Intensity vs ICP から得られた Pt 臓器内濃度の相対比(Pt\_ratio)

右上段: 蛍光 X 線信号の積分強度から算出した相対比(XSAM\_ratio) vs Pt 重量(Pt\_weight)

右中段: 積分強度から算出した相対比(XSAM\_ratio) vs Pt 臓器内濃度(Pt\_concentration)

右下段: 積分強度から算出した相対比(XSAM\_ratio) vs Pt 臓器内濃度の相対比(Pt\_ratio)

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

生体内に包埋されたナノ微粒子の高分解能電子顕微鏡観察に関する研究

主任研究者	亘理文夫	北海道大学歯学研究科教授
研究協力者	市野瀬英喜	理化学研究所フロンティア研究システム 副ディレクター
研究協力者	坂口紀史	北海道大学エネルギー変換マテリアル 研究センター准教授

**研究要旨** 本研究においては、カーボンナノチューブのバイオ応用を見据え、ラット皮下にカーボンナノチューブを包埋し、一定期間経過後に取り出した生体組織片を観察対象とし、生体内におけるカーボンナノチューブの原子構造解析に向けた高分解能電子顕微鏡観察技法の最適化について検討した。本年度は特に、超高压超高分解能電子顕微鏡付属の電子エネルギー損失分光器（EELS）を用いたエネルギーフィルター像観察を併用することにより、生体内に取り込まれたカーボンナノチューブの原子構造と分散状況について検討した。エネルギーフィルターを用いることで、生体内に包埋されたカーボンナノチューブが明瞭なコントラストで観察された。さらに、非弾性散乱電子を用いた結像を応用することで、プラズモンロス像やカーボンマップ像も取得可能となり、特に、カーボンマップ像では個々のカーボンナノチューブを明瞭に区別することが可能であった。これより、超高压 TEM とエネルギーフィルターを併用すれば、生体組織や生体内に包埋された微粒子の無損傷・無染色観察も十分可能であることが示唆された。

#### A. 研究目的

近年の急速なナノテクノロジーの進展は新たなリスクを生み出している。ナノマテリアルによって生じる環境や健康への影響は既に現実的な問題になっているにもかかわらず、その潜在的なリスクについてさえ十分に議論されているとは言い難い。一方で、ナノテクノロジーを駆使したナノマテリアルやそれらを応用したナノエレクトロデバイスの開発は今後の日本国の浮沈を懸けて取り組むべき最重要課題であることは疑う余地も無く、世界をリードするための開発競争は熾烈を極めつつある。そのような理由から、ナノマテリアルが使用された製品が市販されるようになった現在においても、健康へのリスクについては十分に把握できていないのが現状であ

る。

他方、ドラッグデリバリーシステム（DDS: Drug Delivery System）をはじめとするバイオテクノロジーとナノテクノロジーの融合は、すでにそれなりの期間研究が継続されている。例えば、ナノパーティクルの中には、既に製品化され使用されているものがある一方、その応用にあたって安全性については手が回りかねているのが実状である。無論、バイオナノテクノロジーを駆使した研究開発を増進させることと、安全性や健康へのリスクマネジメントを両立させることが必要であることは言うまでも無い。ナノマテリアルテクノロジーの分野では、原子構造、電子構造、物性、を一体のものとして捉えることによって、二つの作業のいわば一体化に関する試みが



既に行われつつあるが、バイオナノテクノロジーにおいても、対象を限定すればおそらくこのことは可能である。特に、生体とバイオマテリアルとが近接しないしは接触した状態を生体とバイオマテリアル間の異相界面問題としてとらえれば、界面における原子構造、電子構造、物性、の三者相関の問題に還元することが出来るはずである。原子構造・電子構造・物性相関については、生体のみの系では原子配置の複雑さといったありようがマテリアル系とはかなりかけ離れている。純粋な生体系に比べれば、上述の界面問題に系を帰着させれば、前途はかなりの見通しがきくことになる。このような手法を生かせば、①ナノマテリアルの生体反応性に関する学術的・科学的データの整備、ナノテクノロジーのメリットとデメリットの両面からの総合的把握検討、②生体/ナノマテリアル界面に於ける物質移動と反応性の評価並びに安全性基準の提起、③これに立脚したナノバイオマテリアルの開発、などは十分に守備範囲となる。

そこで本研究では、カーボンナノチューブやナノファイバーなどの炭素系ナノ微粒子に興味の対象を絞り込み、生体とナノマテリアル反応の機構の共通項目と個別項目とに分けて原子・電子論的に解明し、ナノマテリアルのパイオ医用応用に求められる一定の指針を得ることを目的とした。本年度は、生体内におけるカーボンナノチューブ・ナノファイバーの高分解能電子顕微鏡観察技法の最適化に向け、特にエネルギーフィルターを用いた生体内ナノ粒子の観察手法の確立を試みた。

## B. 研究方法

ラット皮下にナノ微粒子(カーボンナノチューブ、カーボンナノファイバー)を包埋し、一定期間経過後に生体組織片を取り出した(還流固定、オスミウム・酢酸鉛二重染色)。生体組織片を脱水、浸透後にエポキシ樹脂へ包埋・重合した後、マイクロトームにより厚さ80nm以下に薄片化することでTEM観察用試料を作製した。生体組織片の高分解能観察に先立ち、低加速電子顕微鏡(日立H-700、加速電圧75kV)を用いて細胞内におけるナノ微粒子の凝集形態をTEM観察した。その後、北海道大学に設置された超

高分解能電子顕微鏡(日本電子JEM-ARM-1300NEF、加速電圧1250kV、点分解能0.12nm)を用いて、生体組織片内に包埋されたナノ微粒子のTEM観察を行った。さらに、同試料を、九州大学に新設されたエネルギーフィルター搭載超高压超高分解能電子顕微鏡(日本電子JEM-ARM-1300NEF、加速電圧1250kV、点分解能0.12nm)を用いて、エネルギーフィルター像観察も実施した。TEM観察は室温にて行い、記録媒体にはTEM用ネガフィルム(北海道大学HVTEM)及びスロースキャンCCD(九州大学HVTEM)を用いた。

## C. 研究結果

カーボンナノチューブをラット皮下に包埋し、1週間経過後に取り出した生体組織片の各種TEMによる観察結果を図1に示す。図1-1に見られるように、低加速TEMを用いることで生体細胞組織が明瞭に観察されるとともに、包埋されたカーボンナノチューブが凝集体として存在していることが容易に観察できる。一方、超高压TEMによる観察(図1-2)では、生体組織のコントラストが不鮮明になるとともに、カーボンナノチューブ凝集体についても、個々のナノチューブを分離して観察することが困難となる。これは、超高压化に伴う透過能の向上に起因する。これに対し、エネルギーフィルターを装着した超高压TEMによる観察(図1-3)では、生体組織を高コントラストで映し出すのみならず、凝集体中の個々のナノチューブも明瞭に識別可能である。従来は、ナノチューブ分散状況を評価するために低加速TEM観察が必要であったが、エネルギーフィルターを超高压TEMに装着することでそれと同等のコントラストを有する観察像が得られることが分かった。

さらに、エネルギーフィルターの有用性を明らかにするため、非弾性散乱電子の結像による観察を実施した。図2には、生体内ナノチューブ凝集体をそれぞれゼロロス像(図2-1)およびプラズモンロス像(図2-2)として観察した結果を示す。ここで、用いたエネルギーフィルターのスリット幅は、ゼロロス像では50eV、プラズモンロス像では70eVである。ゼロロス像では、ナノチューブ凝集体が暗コントラストで観察されているのに対し、プラズモンロス像ではコントラストが反転している様子が見てとれる。一見すると、これは明視野像と暗視野像に対



応するように思われるが、本観察結果が意味することは、カーボンナノチューブで非弾性散乱（プラズモン散乱）される電子の割合が多いということである。これは、生体内組織と比較してカーボンナノチューブの密度が大きいことに起因すると考えられる。また、プラズモンロス像では生体組織のコントラストも比較的明瞭に映し出されているが、これは染色に利用した重金属元素により発生した非弾性散乱電子の寄与によると思われる。この点については、今後更なる検討が必要である。図3は、生体内ナノチューブ凝集体のカーボンマップ像である。カーボンナノチューブが凝集した領域が明コントラストで示されているとともに、凝集した個々のカーボンナノチューブが明瞭に区別できている。これは、本研究で使用したエネルギーフィルター搭載超高压 TEM が、フィルター像観察においても優れた分解能を有することを意味している。なお、生体組織内においてもコントラストにムラが生じているが、この要因については今後の検討課題の一つである。

#### D. 考察

エネルギーフィルターを装着した超高压 TEM による生体組織の観察より、低加速 TEM 観察と同等のコントラストで生体組織や内包したカーボンナノチューブ凝集体が観察可能であることが明らかとなった。従来、超高压 TEM を用いた生体組織観察は、主として厚い試料を対象に実施されてきた。これは、超高压 TEM の優れた透過能を利用しているが、透過能の向上は低コントラスト化の要因となる。元来、生体組織は軽元素で構成されているため電子線に対し「透明」であり、コントラスト改善のため電子染色が施されてきた。さらに、電子線と物質との相互作用を大きくするため、電子線エネルギー（加速電圧）を低下して TEM 観察する機会が多い。一方、電子線と物質との相互作用が大きいということは、電子線が物質に与えるダメージ（主として熱的影響）が大きいことと等価であり、低加速 TEM 観察では常に電子線照射損傷の問題が存在する。本研究で示したように、超高压 TEM にエネルギーフィルターを装着することで生体組織が高コントラストで観察されるということは、電子線照射に弱い組織の観察も十分可能であることを意味する。さらに、非弾性

散乱電子を用いた結像を応用することで、プラズモンロス像やカーボンマップ像を同時に取得することも可能である。特に、カーボンマップ像では個々のカーボンナノチューブが明瞭に区別できている、本研究で使用したエネルギーフィルター搭載超高压 TEM は、フィルター像観察においても優れた分解能を有することが明らかとなった。これらの結果より、超高压 TEM とエネルギーフィルターを併用すれば、生体組織や生体内に包埋された微粒子の無染色観察も十分可能であると考えられる。

#### E. 結論

本研究においては、カーボンナノチューブのバイオ応用を見据え、ラット皮下にカーボンナノチューブを包埋し、一定期間経過後に取り出した生体組織片を観察対象とし、生体内におけるカーボンナノチューブの構造解析に向けた高分解能電子顕微鏡観察技法の最適化と、エネルギーフィルターを用いた原子構造解析手法の確立を試みた。エネルギーフィルターを用いることで、生体内に包埋されたカーボンナノチューブが高コントラストで観察可能となった。さらに、非弾性散乱電子を用いた結像を応用することで、プラズモンロス像やカーボンマップ像も取得可能であり、特に、カーボンマップ像では個々のカーボンナノチューブを明瞭に区別することが可能であった。これより、超高压 TEM とエネルギーフィルターを併用すれば、生体組織や生体内に包埋された微粒子を無損傷・無染色で観察可能であることが示唆された。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. N. Sakaguchi, F. Watari, A. Yokoyama, Y. Nodasaka, "High-resolution electron microscopy of multi-wall carbon nanotube in the subcutaneous tissue of rats" *Journal of Electron Microscopy*, 58, 159 (2008)
2. N. Sakaguchi, F. Watari, A. Yokoyama, Y. Nodasaka, H. Ichinose "Low-voltage and high-voltage TEM observations on MWCNTs of rat *in vivo*" *Bio-Medical Materials and Engineering*, in press

##### 2. 学会発表

1. N. Sakaguchi, F. Watari, A. Yokoyama, Y. Nodasaka, H. Ichinose





75kV TEM、ネガ：富士フィルム FG

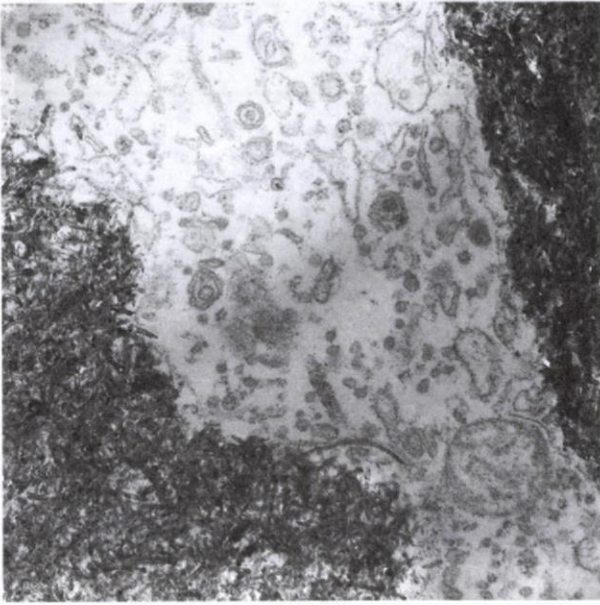


図 1-1

1250kV HVTEM、ネガ：コダック SO-163

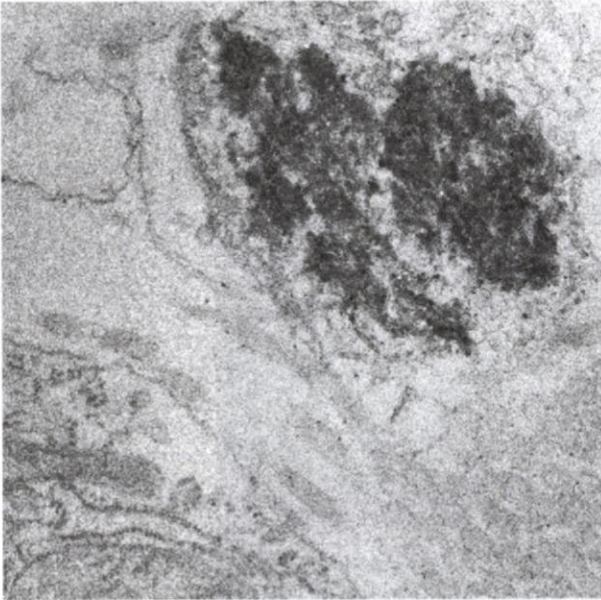


図 1-2

1250kV HVTEM、SS-CCD ( $\Omega$ フィルター)

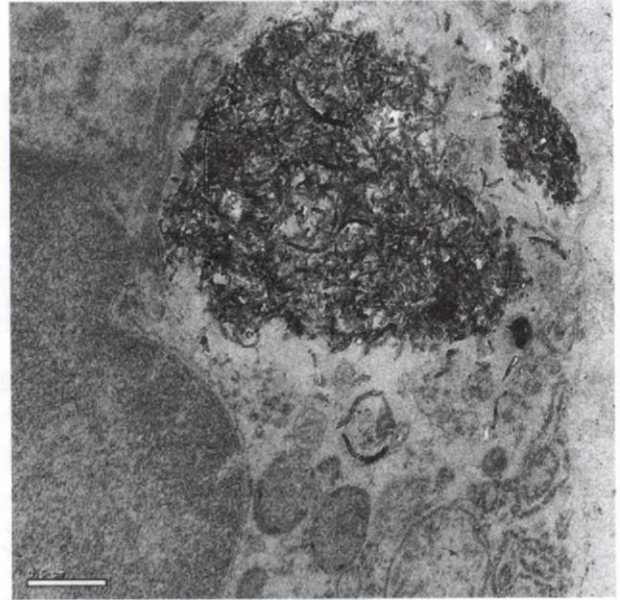


図 1-3

図 1 ラット皮下に包埋された MWCNT の TEM 像  
(1-1：低加速 TEM、1-2：超高压 TEM、1-3：超高压 TEM+エネルギーフィルター)

ゼロロス像

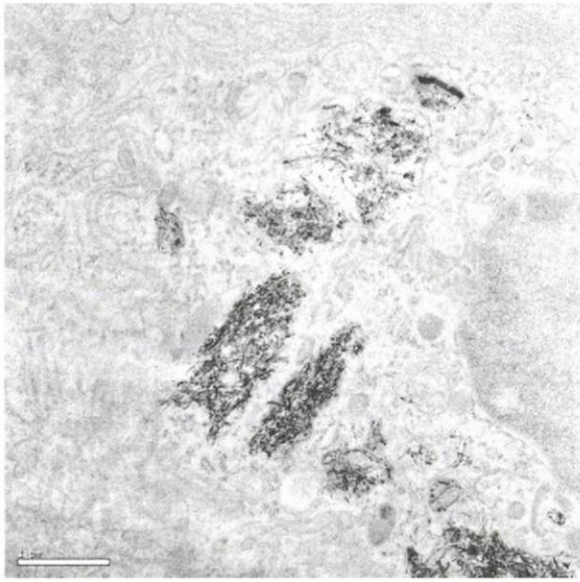


図 2-1

プラズモンロス像

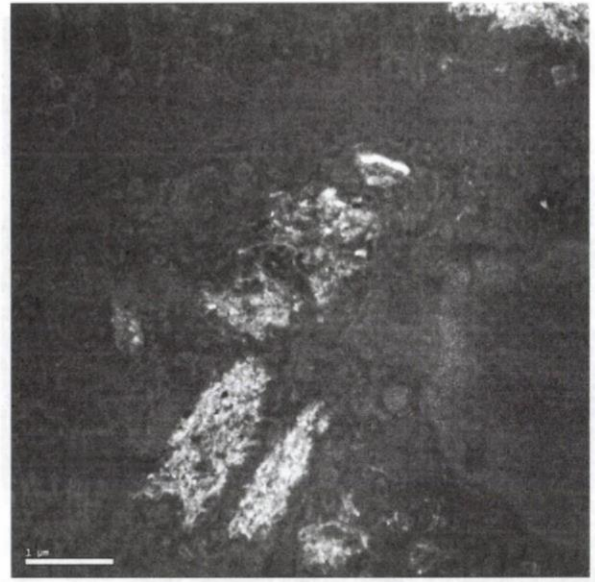


図 2-2

図2 ラット皮下に包埋された MWCNT のエネルギーフィルターTEM 像  
(2-1 : ゼロロス像 ; スリット幅 50eV、2-2 : プラズモンロス像 ; スリット幅 70eV)

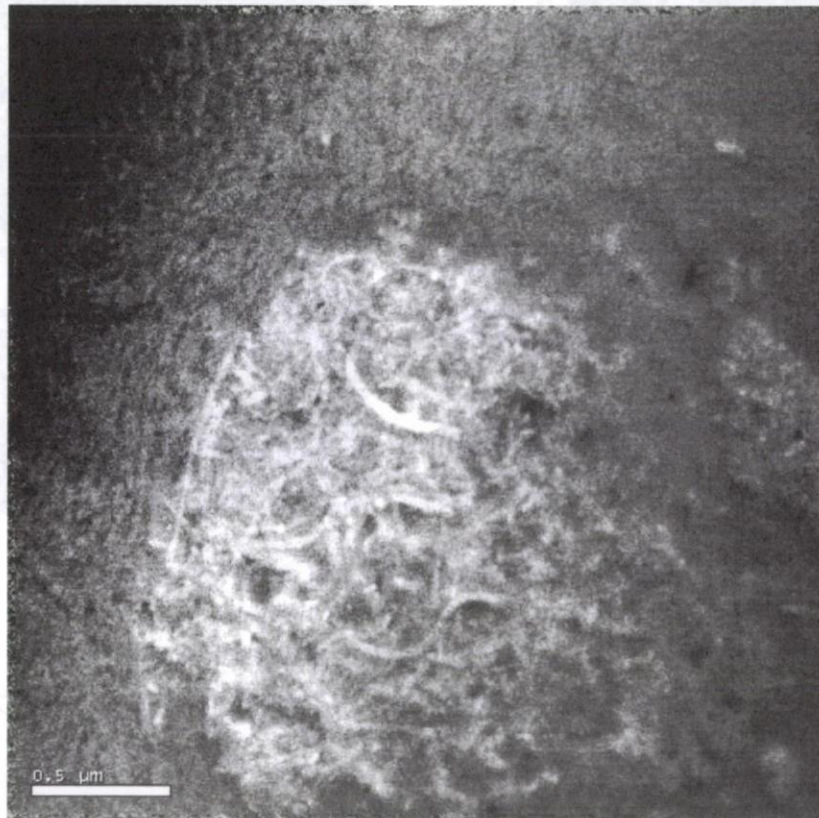


図3 ラット皮下に包埋された MWCNT のカーボンマップ像



厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

ゾウリムシを毒性評価系とする銀微粒子の細胞毒性発現に関する研究

分担研究者	巨理文夫	北海道大学歯学研究科教授
研究協力者	芳賀信幸	石巻専修大学理工学部教授
研究協力者	羽田紘一	石巻専修大学理工学部教授
研究協力者	阿部大基	石巻専修大学理工学研究科研究生

**研究要旨** 昨年度までの先行実験で我々は、ゾウリムシを用いた細胞毒性評価系において、銀微粒子分散液には強い毒性があることを見出し、さらにこの毒性因子は誘導結合プラズマ発光分光分析の結果、銀イオンであることを明らかにした。本研究では、ウシ血清アルブミン（300  $\mu$ g/ml）に銀イオンの細胞毒性を中和する作用があることを新たに発見した。さらに、銀イオンの毒性発現メカニズム解明のために行った SDS-PAGE では、銀イオン処理特異的に出現する 2 種類のポリペプチド（推定分子量 60–65 kDa）があることを明らかにした。これらのポリペプチドのアミノ酸分析を行った結果、一つは  $\beta$  チューブリンと全く相同のタンパク分子であった。また、もう一方は、Paramecium DB と NBSC の両方に登録されているが、機能不明の新規遺伝子由来のタンパク分子であった。細胞学的所見では銀微粒子分散液による細胞死には微小管系の崩壊が認められているので、これらのタンパク分子は銀イオン毒性発現の初期過程に密接に関連していると考えられる。

#### A. 研究目的

近年、ナノテクノロジーによって構築・作製された素材の活用は、情報、電子、光学、音響などの精密メカトロニクス分野にとどまらず、医療、農林水産、衣、食、住、健康、美容など人体と直接接触する素材においても著しい発展を見せている。しかるに、金属ナノ物質の人体や野生生物に対する有害性の検証知見は極めて少ない。

我々は単細胞真核生物であるゾウリムシを用いて、迅速で、再現性が高く、検出感度の高いナノ物質の細胞毒性評価法を検討してきた。昨年度までの研究では、銀ナノ粒子分散液に強い細胞毒性があることを初めて明らかにし、その主たる毒性因子は銀ナノ粒子分散液中で生成した銀イオンであることを証明した。

銀イオンは微生物に対する抗菌作用があることが

ら、これまでに農林水産の諸分野で殺菌剤として広く用いられてきた。しかし、その抗菌作用に関する分子機構は明らかにされていない。

本研究では、銀ナノ粒子分散液中で生成された銀イオンによる毒性発現の初期過程を解明すること、および銀イオンの細胞毒性を中和する物質の検索を目的とした。前者は、銀ナノ粒子分散液で処理したゾウリムシのペプチド構成を SDS-PAGE で解析し、銀ナノ粒子分散液特異的に出現するポリペプチドを検索し、それらのアミノ酸配列を分析することによって、ゲノム遺伝情報の中から関連遺伝子を同定するという戦略である。また、毒性中和物質の検索は、候補となる物質を銀ナノ粒子分散液と混合してゾウリムシを処理することによって、毒性発現の程度を評価するという方法を用いた。



## B. 研究方法

ゾウリムシはレタスジュース培養法によって培養した。銀ナノ粒子分散液の細胞毒性評価は10細胞を一組とする実験群を必要に応じて設定して行い、平均値で評価した。

銀粒子は不活性ガス雰囲気下で銀金属塊を加熱蒸発し、形成された気相から固化させる「希ガス中蒸発法」によって作製した。毒性試験に用いた銀粒子は平均粒径21 nm および28 nm のもので、粒子径はX線回折法によって算出した。

銀ナノ粒子分散液の透析処理は平均孔径5オングストロームの透析チューブを用い、蒸留脱イオン水に対して暗所で24℃、24時間行った。

透析処理を行った外液中の銀イオンの定量は東北緑化環境保全(株)に外注し、誘導結合プラズマ発光分光分析法(ICP-AES)によって行った。

## C. 研究結果

図1は銀ナノ粒子分散液で処理したゾウリムシの形態変化を示す写真である。また、図2にはSDS-PAGEによるペプチドパターンをした。細胞死をもたらす処理群として、銀ナノ粒子分散液の他に、銀イオン溶液、低温処理、高温処理も同時に行い、同一ゲル内で電気泳動を行い、ペプチドパターンを比較した。その結果、銀ナノ粒子分散液と銀イオン溶液処理群に共通し、他の処理では出現しなかったペプチドとして、分子量約60から65 kDaの領域に明瞭なバンドが2本確認された。

これらのペプチドバンドを切り出し、フナコシ(株)に外注してアミノ酸分析とゲノム検索をおこなった。その結果、一つのポリペプチドはヨツヒメゾウリムシのデータベース(Paramecium DB)とNBSCで共通してヒットし、同定された遺伝子はβチューブリンであった。もう一方のポリペプチドも両方のデータベースでヒットしたが、機能はまだ記載されていない未知の遺伝子であった。

銀イオンの細胞毒性を中和する物質の検索は、アルブミン系の物質を中心に行った。その結果、ウシとヒト由来の血清アルブミンに毒性中和作用があることが明らかになった(図3はヒト血清アルブミン)。中和作用は血清アルブミンの濃度に依存した。

## D. 考察

銀ナノ粒子分散液の毒性発現の初期過程で、細胞死に至る途中の細胞中にβチューブリンが大量に出現することが明らかになった。銀ナノ粒子分散液では、ゾウリムシは繊毛逆転による後方遊泳を継続的にを行い、やがて、細胞後端部の収縮を伴った後方遊泳の停止に至り、細胞死となる。この間に、細胞表面の一部では繊毛が退化(脱落の可能性もある)している領域が確認された。βチューブリンは繊毛軸糸の構成成分であることから、繊毛が細胞質内に吸収された結果、細胞内のβチューブリン量が増加した可能性が考えられる。

また、未知の遺伝子によってコードされている第二のポリペプチドに関しては、その機能や細胞内局在性の確認は今後の課題として残されている。このポリペプチドに対する抗体を作成することによって、これらの問題に対するアプローチが可能になると考える。

ウシおよびヒト血清アルブミンが銀イオンの毒性を中和する作用を持つという所見は、人体に対する安全性確保の点から極めて重要であると考えられる。今後、銀イオンと血清アルブミンの相互作用を化学量論的に精査することによって毒性中和作用の分子機構が明らかになるものと期待される。

## E. 結論

銀ナノ粒子分散液の細胞毒性発現には銀イオンが関与している。銀イオンの作用によって、繊毛運動の逆転とそれに続く繊毛退化が誘導され、その結果、最終的には細胞死に至るのではないかと考えられる。また、血清アルブミンは銀イオンの毒性を中和する作用を持つことが明らかになった。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. K. Yada, T. Abe and N. Haga. Studies of *Paramecium caudatum* by means of scanning electron microscope and projection X-ray microscope. Bio-Medical Materials and Engineering (in press) (2009).
2. Y. Takenaka, A. Yanagi, H. Masuda, Y. Mitsui, H. Mizuno and N.

Haga. Random insertion of injected DNA molecules into the macronuclear chromosome of *Paramecium caudatum*. Jpn. J. Protozool. 41: 159-168 (2008).

#### 4. 学会発表

1. T. Abe and N. Haga, Cytotoxicity mechanism of Ag particles in *Paramecium*. Jpn. J. Protozool. 42: 36-37 (2009)
2. H. Sasaki and N. Haga, Method for cryopreservation of *Paramecium caudatum*. Jpn. J. Protozool. 42: 16-17 (2009)
3. N. Haga and T. Abe, Studies on immaturin, a sexual rejuvenescence molecule in *Paramecium*, by polyclonal antibody. Jpn. J. Protozool. 42: 62-63 (2009)

#### G 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案取得  
なし

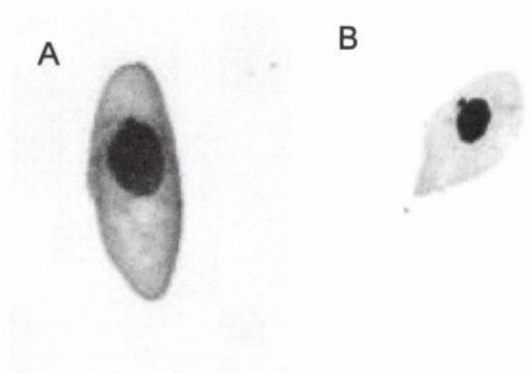


図1 銀ナノ粒子分散液中での細胞の形態変化

A : コントロール細胞、B : Ag 粒子分散液中での死細胞。

バーは 50  $\mu$ m。

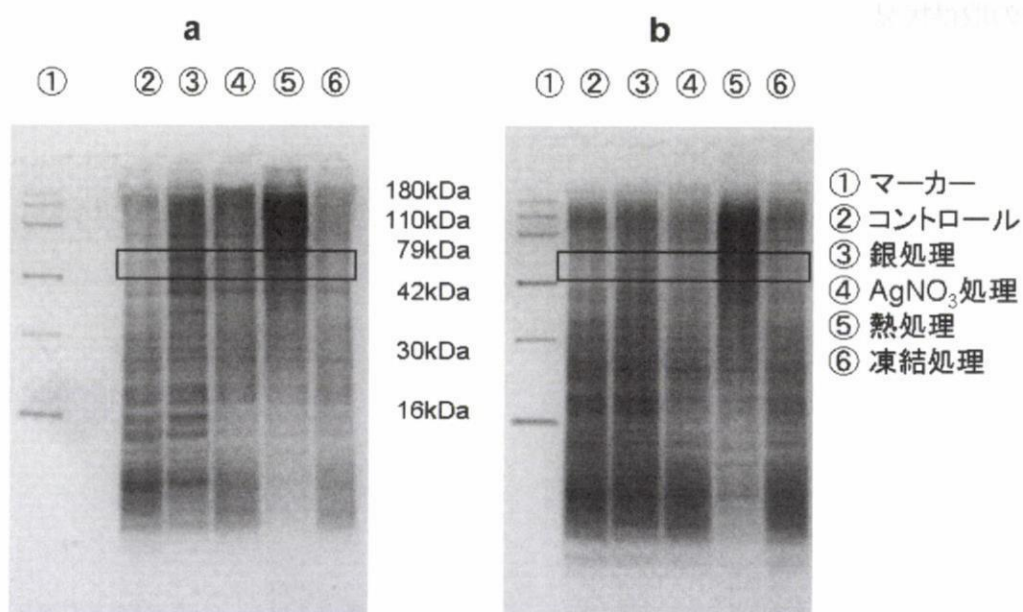


図2 ゾウリムシの全細胞を用いた SDS-PAGE の写真。

ペプチドバンドは銀染色法によって染色した。中央の数値はマーカー分子の分子量を示す。

○中の数字は実験処理方法を表す。②は無処理の細胞のポリペプチドパターン、③は銀ナノ粒子分散液処理、④は硝酸銀溶液処理、⑤は 100℃ 5 分、⑥は -20℃ で 5 分凍結した細胞である。a はゾウリムシ、b はヨツヒメゾウリムシ。



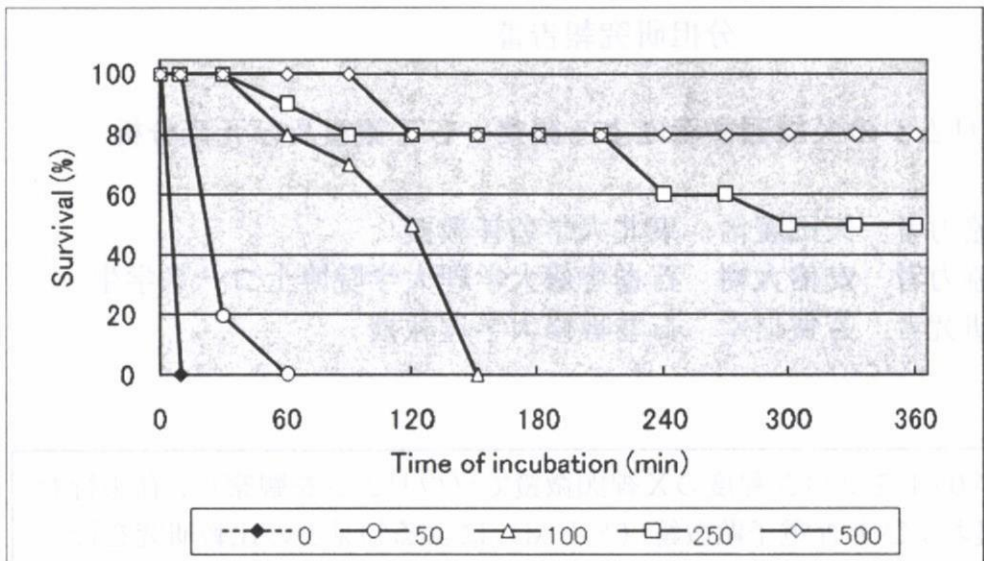


図3 ヒト血清アルブミンの銀ナノ粒子分散液細胞毒性に対する中和効果  
 ヒト血清アルブミンを0から500  $\mu\text{g/ml}$ までの濃度で銀ナノ粒子分散液と混合し、ゾウリムシに投与した。毒性に対する中和作用は濃度依存的である。横軸は処理時間(分) 縦軸は10細胞での平均生存率である。