

樹脂系ナノ粒子は単細胞緑藻類である *Chlamydomonas reinhardtii* に対して効率よく細胞増殖阻害をすることが知られているが、その詳しいメカニズムについては不明な点が多く残っている。近年、陸上植物の他に菌類や様々な単細胞真核藻類においても Programmed Cell Death (PCD) の存在が示唆されている。ナノ粒子暴露による細胞死では活性酸素種の蓄積を伴うことがわかっており、これを引き金として PCD が誘導されている可能性がある。本研究では、ナノ粒子の暴露時間、ナノ粒子の濃度を変化させて DNA 抽出をし、アガロース電気泳動法による切断 DNA 断片の検出を行うことで PCD 誘導の有無を検証した。多細胞動物において、PCD 誘導の引き金となる中心的な遺伝子は Type I 及び Type-II caspase であるが、それと同様の働きをすることが知られているプロテアーゼ、Type I 及び Type-II metacaspase 遺伝子を持っていることがゲノム解析により知られている。DNA 断片の挿入により得られた metacaspase 変異体である MC1A 株を用いることで、metacaspase が *C. reinhardtii* においても PCD 誘導へ関与しているのかを検証した。MC1A 株における PCD の誘導には、ナノ粒子と同様に活性酸素種の誘導剤である menadione (ビタミン K) を用いた暴露により検証を行った。

これまでに、グラム陰性菌などでは、細胞増殖阻害は iB から構成される粒子と E から構成される粒子で違いが見られるということが報告されている。

本研究では、多様な C 系ナノ粒子を暴露しその効果を比較することで、ナノ粒子の細胞増殖阻害能がどこにあるのか検証することを目的とした。異なるモノマーを原料とした 11 種の C 系ナノ粒子を用意した。界面活性剤をすべて Tween80 に統一することで、その影響に配慮した。11 種中で最も粒径の大きいナノ粒子 (平均粒径 340 nm) を基準にモル濃度を同一にしたのちに、*C. reinhardtii* に対して暴露をした。また、ナノ粒子の重量濃度を同一とした暴露も行った。振とう機にて培養を行い、マクファーランド比濁法によって濁度を測定した。細胞増殖に違いがあるのか観察することで、ナノ粒子のモノマーや粒径、暴露した濃度による影響を比較した。

iBCA ナノ粒子を構成するポリマーの重合度は 13- 20 程度とかなり低く、溶液中に希釈するとナノ粒子の粒径が逓減することがわかった。事前に逓減させたナノ粒子用いた *C. reinhardtii* への暴露を行った。同一ナノ粒子で逓減時間を変化させ、細胞増殖の違いを観察した。また、各逓減時間でのナノ粒子の粒径を、動的光散乱法による測定で観察した。暴露時のナノ粒子の粒径の細胞増殖の違いを比較し、阻害効果に違いがあるのかを検証した。