

令和 5 年 10 月 20 日
愛 媛 大 学

金ナノ粒子による DNA 検出の高感度化

～疾病関連遺伝子の高感度検出を目指した DNA 密度制御～

このたび、愛媛大学大学院理工学研究科（理学系）の座古保教授らの研究グループは、理化学研究所との共同研究により、表面に DNA を修飾した金ナノ粒子を用いた DNA 検出における表面 DNA 密度の影響を明らかにしました。

金ナノ粒子がターゲット分子依存的に示す凝集を溶液色変化によって評価する簡便な分子検出が注目されています。特に、一本鎖 DNA を修飾した金ナノ粒子を用いた DNA 検出は、遺伝子診断への応用が期待されます。しかし、金ナノ粒子に修飾された DNA 密度が遺伝子の検出感度に与える影響については不明でした。

今回、凍結法を利用した DNA 修飾金ナノ粒子合成において、エチレングリコールを用いて、金ナノ粒子に修飾する DNA 密度を容易に制御できることを初めて見出しました。また密度制御された DNA 修飾金ナノ粒子を用いて、ターゲットとなる相補的な一本鎖 DNA の検出感度に対する、修飾 DNA 密度の影響についても調査を実施しました。その結果、修飾 DNA 密度が低い金ナノ粒子ほど、より高感度にターゲット一本鎖 DNA を検出できることが分かりました。本研究により、今後の遺伝子診断のさらなる高感度化が期待されます。

本研究成果に関する論文は、英国王立化学会(RSC)の学術雑誌「RSC Advances」に掲載され、オンライン版で公開されました（2023年10月19日（日本時間））。

つきましては、ぜひ取材くださいますようお願いいたします。

記

掲載誌 : RSC Advances
DOI : 10.1039/d3ra06528f
題名 : Effect of DNA density immobilized on gold nanoparticles on nucleic acid detection
(和訳) 金ナノ粒子に固定化された DNA 密度の核酸検出における影響
著者 : Gen Hirao, Nanami Fukuzumi, Atsushi Ogawa, Tsuyoshi Asahi, Mizuo Maeda and Tamotsu Zako
URL : <http://chem.sci.ehime-u.ac.jp/~anachem1/>

本件に関する問い合わせ先

愛媛大学大学院理工学研究科（理学部化学コース）

教授 座古 保

TEL : 089-927-9577

Mail : zako.tamotsu.us@ehime-u.ac.jp

※送付資料 4 枚（本紙を含む）

【ポイント】

- エチレングリコールにより、金ナノ粒子に修飾した DNA 密度を容易に制御できることを発見
- DNA 密度が低い DNA 修飾金ナノ粒子ほど、より高感度にターゲット 1 本鎖 DNA を検出できることを見出した。

【概要】

金ナノ粒子は、溶液中で分散(赤色)・凝集(青紫色)状態異なる色を示します。標的分子の存在によってこの色変化が引き起こされることを利用して、様々な分子検出に応用されてきました。特に、一本鎖 DNA を修飾した金ナノ粒子による DNA 検出は、配列特異的、反応が迅速である点から、様々な遺伝子診断に利用されてきました。しかし、金ナノ粒子に修飾された DNA 密度が遺伝子の検出感度に与える影響については不明でした。

今回、凍結法を利用して DNA 修飾金ナノ粒子合成を行い、エチレングリコールを用いて、金ナノ粒子に修飾する DNA 密度を容易に制御できることを初めて示しました。また密度制御された DNA 修飾金ナノ粒子を用いて、1 本鎖 DNA 検出における修飾 DNA 密度の影響についても調べました。その結果、修飾 DNA 密度が低い金ナノ粒子ほど、より高感度にターゲット 1 本鎖 DNA を検出できることが初めて観察されました。本研究結果は、今後の遺伝子診断のさらなる高感度化のための基盤になることが期待されます。

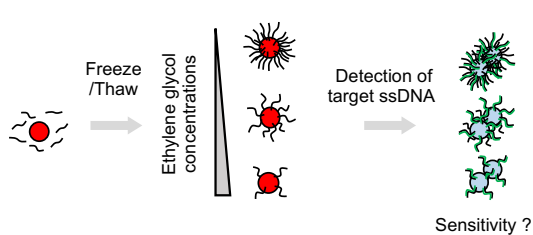


図 DNA 修飾金ナノ粒子の DNA 修飾密度制御及び遺伝子検出感度への影響評価

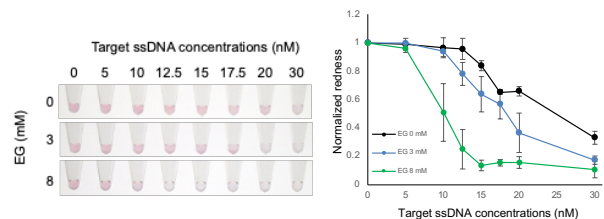


図 DNA 密度を制御した DNA 修飾金ナノ粒子による遺伝子検出 (溶液色変化 (左) および溶液色評価 (右))

【詳細】

直径が数～数十 nm の金ナノ粒子は、溶液中において、分散状態で赤色、凝集状態で青紫色を示すことが知られています。この特性から、標的分子存在下においてのみ凝集体を形成させ、その溶液色変化を観察することで標的分子検出が実現されてきました。特に、一本鎖 DNA を修飾した金ナノ粒子は、標的となる遺伝子と完全に相補な二本鎖 DNA を形成した場合にのみ凝集体形成が引き起こされ、さらにその反応が迅速であることから、様々な遺伝子診断に利用されてきました。しかし、金ナノ粒子に修飾された DNA 密度が遺伝子の検出感度に与える影響については不明でした。

今回、DNA 修飾金ナノ粒子合成を従来法の手法よりも簡便かつ短時間で合成できる凍結法において、エチレングリコールを用いて、金ナノ粒子に修飾した DNA 密度を容易に制御できることを初めて示しました。凍結法は、凍結過程で生じる氷晶の隙間に DNA と金ナノ粒子が濃縮されることで、容易に金ナノ粒子表面に DNA を修飾可能な合成手法です。この氷晶間隔をエチレングリコールで制御することにより、DNA と金ナノ粒子の濃縮程度が変化することで密度を制御できたと考えられます。

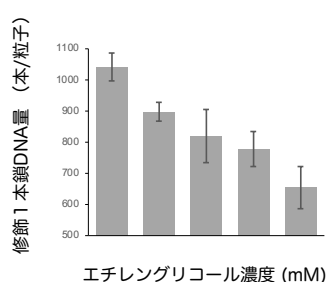


図 エチレングリコールによる修飾 DNA 量制御

また密度制御された DNA 修飾金ナノ粒子を用いて、ターゲット 1 本鎖 DNA 検出における修飾 DNA 密度の影響についても調査を実施しました。その結果、修飾 DNA 密度が低い金ナノ粒子ほど、より高感度にターゲット 1 本鎖 DNA を検出できることが明らかになりました。本研究により、今後の遺伝子診断のさらなる高感度化が期待されます。

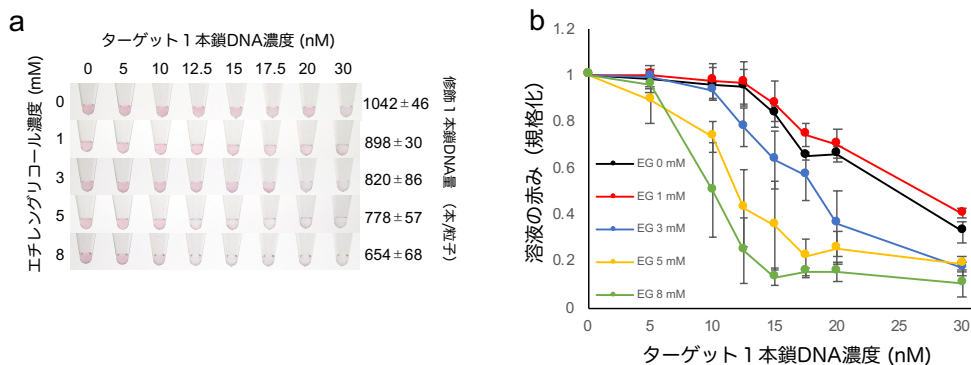
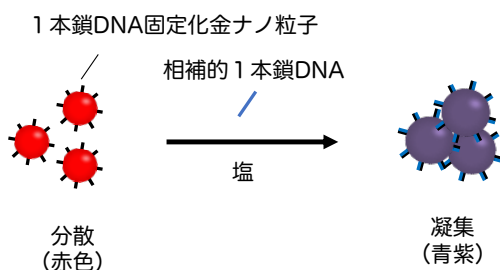


図 異なる修飾 DNA 量の金ナノ粒子によるターゲット 1 本鎖 DNA 検出. a) エチレングリコールにより修飾 DNA 量を制御した金ナノ粒子に対して、様々な濃度のターゲット 1 本鎖 DNA を加えたときの溶液色変化. b) a)の溶液色画像を色分解し、赤青緑成分強度より求めた赤み (=赤-(緑+青)/2)

【用語解説】

DNA 修飾金ナノ粒子によるターゲット 1 本鎖 DNA 検出 : 1 本鎖 DNA を修飾した金ナノ粒子は、塩存在下でターゲットとなる相補的な 1 本鎖 DNA を加えると凝集する。一方で、外側末端にミスマッチが生じるような 1 本鎖 DNA を加えた場合は粒子の凝集は起きない。これは、ミスマッチ部位近傍は比較的柔軟で運動性の高いため、立体的な斥力が生じているためではないかと考えられている。それに対して、末端が相補的な場合は Van der Waals 力が勝り、塩による粒子間の静電反発力低下と合わさり凝集が生じる。



凍結法による金ナノ粒子上への DNA 修飾: DNA 修飾金ナノ粒子は、チオール基を末端に有する 1 本鎖 DNA を金-チオール結合により金表面に固定化することで作成する。徐々に塩を加えて、DNA と金ナノ粒子の負電荷による反発を抑えながら、DNA を固定化してきたが、時間がかかる (2~3 日) などの問題があった。それに対し、凍結法では、チオール基を有する 1 本鎖 DNA を金ナノ粒子溶液に加え、-80 度で 30 分程度凍結後、融解するだけで固定化できる。凍結過程で生じる氷晶の隙間に DNA と金ナノ粒子が濃縮されることで、容易に金ナノ粒子表面に DNA が修飾されると考えられている。

【論文情報】

掲載誌 : RSC Advances

題名 : Effect of DNA density immobilized on gold nanoparticles on nucleic acid detection

(和訳) 金ナノ粒子に固定化された DNA 密度の核酸検出における影響

著者 : Gen Hirao, Nanami Fukuzumi, Atsushi Ogawa, Tsuyoshi Asahi, Mizuo Maeda and Tamotsu Zako

DOI : 10.1039/d3ra06528f

URL : <http://chem.sci.ehime-u.ac.jp/~anachem1/>

【研究サポート】

この研究は、日本学術振興会科学研究費 (19H92527, 22K19114 and 23H01778)、愛媛大学リサーチユニット「先端ナノ・バイオ分析研究ユニット」、理研からの助成を受けて行われました。

【本件に関する問い合わせ先】

愛媛大学 大学院理工学研究科 (理学部化学コース) 教授 座古保

電話 : 089-927-9577

E-mail : zako.tamotsu.us@ehime-u.ac.jp