遺伝改変フェリチンによる離散金ナノ粒子アレイ作製技術の構築

Constructing dispersible gold nanoparticle arrays using recombinant ferritin

○信澤和行 [1]、岡本尚文 [2]、Chong Karen Siew Ling[3]，山下一郎 [1, 2]（1. 阪大院工、2. 奈良先端大物質、3. IMRE A*STAR）

°Kazuyuki Nobusawa[1], Naofumi Okamoto[2], Karen Siew Ling Chong[3], Ichiro Yamashita[1,2] (1. Osaka Univ., 2. NAIST, 3. A*STAR)

E-mail: nobusawa@pmdp.arl.eng.osaka-u.ac.jp

DNA シーケンス解析において、DNA アレイ基板上への DNA probe の密度制御固定は、シグナル検出のエラー抑制、定量解析の信頼性を向上させる重要な技術である。DNA probe の固定には、金基板を下地にしたチオールケミストリによる修飾法が汎用的であるが密度制御は難しかった。その解決手段として我々は、DNA probe 1 分子を固定するナノサイズ金ナノ粒子を基板上に密度制御分散配置して、これに DNA probe を固定する密度制御 DNA probe アレイを提案している。即ち、このナノ粒子の密度分散配置に、我々の提案する、種々のナノ粒子を合成できる球殻状超分子タンパク「フェリチン」を用いたバイオナノプロセス技術を応用する[1]。既にタンパク表面を遺伝子改変した recombinant ferritin (r-fer)の内腔に酸化鉄ナノ粒子を合成し、電子線リソグラフィー手法により形成した直径 15~45nm の単分子膜アレイに固定して酸化鉄ナノ粒子の密度制御アレイ作製に成功している[2]。我々はこれを改変し、ナノインプリントなどの簡便な手法と組み合わせた密度制御した金ナノ粒子単一配置の実現を目指している。現在、残る課題は、r-fer により合成した金ナノ粒子前駆体の Au_2S の Au ナノ粒子への還元と、フェリチンアレイの構築である。今回、Au 還元へのアプローチを検証したので報告する。

単一配置を可能にする r-fer として Fer8-K98E を用いた[2]。これは、98 番のリシンをグルタミンに置き換えたもので、未置換体のおおよそ 2 倍の表面負電荷を有する。まず、K98E 内において、Au イオンとチオウレアからなる金錯体の分解反応を得て、Au_2S の合成を行い TEM 観察により粒子構造を同定した。この負電荷増強フェリチンは、カチオン性の有機膜上で多積層構造を有さない単粒子層を形成した。続いて、UV-ozone 処理 (115℃, 60 分, SAMCO UV-1) によりタンパクおよびカチオン膜の除去が可能であることを示した。さらにこの UV-ozone 処理が同時に Au_2S から Au への化学変換を起こすというユニークな反応であることを確認した。得られた粒子を X-ray photo-electron spectroscopy (XPS) により解析したところ、S 原子のシグナルの消失が確認された。この際、金ナノ粒子の結合エネルギーは酸化体として帰属されず、この結果から金還元体であると考察された。以上の結果から、UV-ozone 処理は、タンパク及び有機分子層の除去と、金ナノ粒子生成を一度に実現することが確認された。この結果により、残された課題は離散的密度制御フェリチンアレイの作製技術となった。

参考文献[1] I. Yamashita, K. Iwahori, S. Kumagai, *Biochim. Biophy. Acta,* **1800** (2010) 846; [2] S. Yoshii, S. Kumagai, K. Nishio, A. Kadotani, I. Yamashita, *Appl. Phys. Lett.*, **95** (2009) 133702

© 2016年 応用物理学会