アガロースゲル精製金ナノ粒子を用いた標的 DNA のサブ pM 検出

High-sensitivity Genetic Screening using Gold Nanoparticles Purified by Agarose Gel Electrophoresis

慶大理工 °江刺家　恵子，(M1)水口　高翔，(B)川口　幹人，斎木　敏治

Keio Univ. °Keiko Esashika, Takaha Mizuguchi, Mikito Kawaguchi and Toshiharu Saiki

E-mail: esashika@saiki.elec.keio.ac.jp

個別化医療開発に向けて、極微量な DNA 検体を超高感度に検出する技術が求められている。この遺伝子診断を直接医療現場で行うことが出来れば、身体的負担、時間、医療費、副作用など最大限に軽減することができる。我々は標的 DNA と相補的に結合する ssDNA を担持させた金ナノ粒子（ssDNA-AuNPs）を標識とし、検体中の極微量の標的 DNA に ssDNA-AuNPs が二量体を形成するよう結合させ、この二量体を光学的特性により識別することで、大掛かりな機器を使用せず短時間測定可能な検出、定量を考えている。本研究では、アルカンチオール自己組織化単分子膜（SAM）を修飾させることにより、分散安定性またハイブリダイゼーション効率ともにすぐれた ssDNA-AuNPs の作製に成功た。そしてこの ssDNA-AuNPs をアガロースゲル電気泳動により精製し、原材料から含まれる金ナノ粒子の凝集や粒子径のばらつきを取り除くことで、より高品質な ssDNA-AuNPs の作製を行った。

【実験方法】標的 DNA に相補的な２種類（Ta2, Ta3）のチオール化 ssDNA を 40nm の AuNPs にそれぞれ修飾し、その後 SAM を添加し ssDNA-AuNPs を作製した。この ssDNA-AuNPs を 1.5%アガロースゲルにアプライし電気泳動を行う。移動した ssDNA-AuNPs バンド中央部分を回収し、濃度調整後同量混合し、625 pM～0.3 pM 濃度の標的 DNA を加え相補的結合させた(Fig. 1)。それぞれの濃度での ssDNA-AuNPs をアガロースゲル電気泳動法により評価した。

【結果・考察】Fig. 1 にアガロースゲル電気泳動測定結果を示す。標的 DNA が 625 pM の濃度では二量体、三量体、多量体などを含むバンドが多く確認され、濃度勾配とともにバンドが減少している。9.7 pM より少ない濃度では二量体のバンドのみの減少が見られ、標的 DNA のない 0 pM と 0.3 pM でもバンドの濃さに差がみられる。よって ssDNA-AuNPs を精製することで操作過程以前での金ナノ粒子凝集や粒子径のばらつきを取り除くことができ、サブ pM 濃度で標的 DNA を検出できる ssDNA-AuNPs を作製することができた。

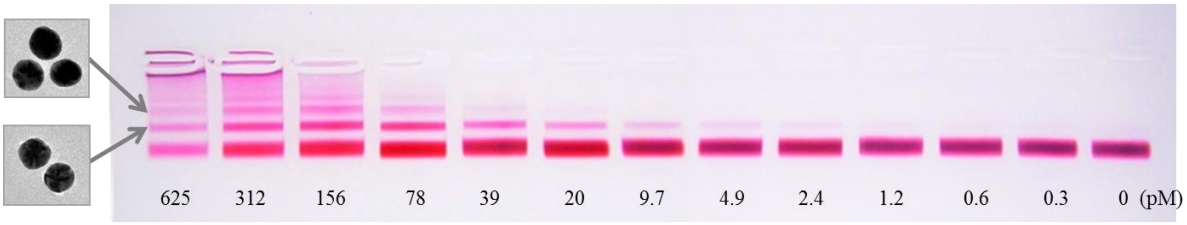

Fig. 1: 1.5% Agarose gel electrophoresis from 625 pM to 0 pM target probe concentration.

© 2017年 応用物理学会