コンジュゲート金ナノ粒子による標的 DNA 検出濃度域の粒径依存性

Dependence of detection range of Target DNA on Conjugated Gold Nanoparticle Size

慶大理工　○(D)江刺家　惠子，斎木　敏治

Keio Univ. °Keiko Esashika, 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。近年では、がんなどの診断や治療法選択において、低侵襲な血液・体液などを用いたリキッドバイオプシーによる、極微量な DNA を迅速かつ高感度に検出する技術が求められているが一方で、細菌検査のように高濃度な DNA 検出にもニーズが高まっている。

この遺伝子診断を、金ナノ粒子(AuNPs)を用いることで大掛かりな機器を使用せず、迅速、高感度に検出、定量できるのではないかと考えている。AuNPs にアルカンチオールを修飾し、ssDNA のコンジュゲート技術を検討することで分散安定性、ハイブリダイゼーション効率共に優れた ssDNA を担持させた AuNPs（ssDNA-AuNPs）の作製に成功している[1]。この ssDNA-AuNPs 技術を発展させ、標的ＤＮＡの２か所に相補的に結合する ssDNA1、ssDNA2 プローブを設計し、このプローブを担持させた ssDNA-AuNPs が標的ＤＮＡに相補的結合し、二量体を形成する（Fig.1)。これにより形成された多量体を簡易なアガロースゲル電気泳動法で分離することで、検出と定量に成功している[2]。この検出では、40nm サイズの ssDNA-AuNPs で Sub-pM 濃度を確認している（Fig.2 上）が、高濃度においては、粒子数の多い多量体の形成や、標的 ssDNA がすべてのプローブが結合してしまい二量体を形成しないなど検出が困難となる。単一粒子径の検出領域は 2～3 桁が限界である。本研究では、粒子径の違う ssDNA-AuNPs のコンジュゲート技術を検討することで、検出領域がサイズごとに異なることを確認した（Fig.2 下)。15nm～50nm の ssDNA-AuNPs それぞれでの検出を行うことで、低濃度から高濃度の広い領域での標的 ssDNA の検出，定量が可能となった。

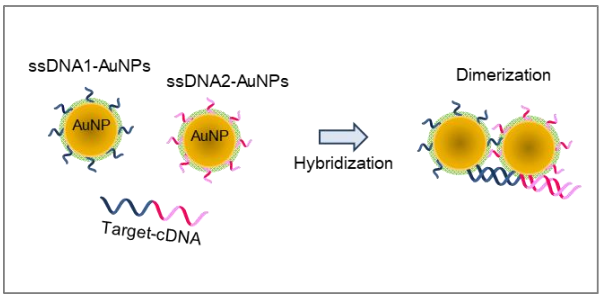

Fig1: Schematic of ssDNA-AuNPs hybridization with Target-cDNA

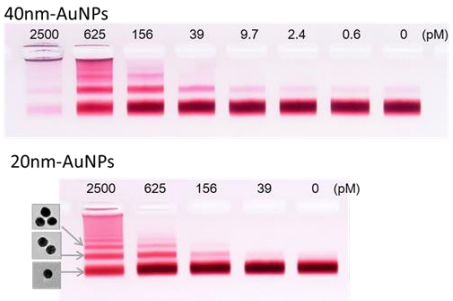

Fig.2: 1.5% Agarose gel electrophoresis of 20nm and 40nm AuNPs for different target-cDNA concentrations

【参考文献】

[1] K. Esashika and T. Saiki, Jpn. J. Appl. Phys., Vol.55, No.10, pp.107001 (2016)

[2] K. Esashika and T. Saiki, Bioconjugate Chem., Vol.29, No.1, pp.182-189 (2018)

© 2018年 応用物理学会