

## DNA オリガミナノアレイを用いた癌マーカー検出

## Detection of cancer biomarker using DNA origami-nanoarray

関西大院<sup>1</sup>, Jagiellonian Univ.<sup>2</sup>, 阪大院工<sup>3</sup>, <sup>○(DC)</sup>浅井 直人<sup>1</sup>, 酒井 雄介<sup>2</sup>, Jonathan Heddle<sup>2</sup>山下 一郎<sup>3</sup>, 清水 智弘<sup>1</sup>, 新宮原 正三<sup>1</sup>, 伊藤 健<sup>1</sup>Kansai Univ.<sup>1</sup>, Jagiellonian Univ.<sup>2</sup>, Grad. Sch. Eng., Osaka Univ.<sup>3</sup>, <sup>°(DC)</sup>Naoto Asai<sup>1</sup>, Yusuke Sakai<sup>2</sup>,Jonathan Heddle<sup>2</sup>, Ichiro Yamashita<sup>3</sup>, Tomohiro Shimizu<sup>2</sup>, Shoso Shingubara<sup>2</sup>, Takeshi Ito<sup>1</sup>E-mail: [k254608@kansai-u.ac.jp](mailto:k254608@kansai-u.ac.jp)

## [目的]

癌が第一期で治療された場合、癌患者の5年生存率は70%を超えることから、癌を早期に発見する重要性は非常に高い。しかし、早期発見のため短い周期で検査を受けることは、時間的・金銭的制約により困難である。本研究では、癌の簡易診断デバイスの構築を目指し、DNA オリガミを利用した水晶振動子マイクロバランス(QCM)法を用いたバイオセンサを作製し、癌マーカーに対する検知性能を評価した。DNA オリガミは非常に長い一本鎖DNAと多数の短いDNAで構成されており、その短いDNAを癌マーカーと特異的に結合するDNA アプタマーに置換することで、DNA オリガミにリガンド結合機能を付与することが可能である[1]。また、QCM センサは、小型・安価・物質の吸着を時間依存的に検出できるという利点を有する反面、測定原理から低分子量物質の吸着を高感度に検出することが困難である[2]。多数のDNA アプタマーが修飾されたDNA オリガミを高密度にQCM センサ電極上に配列することで標的タンパク質をより多く補足できるためQCM センサの高感度化が期待できる。

## [実験方法]

本研究では、検出対象タンパク質として肝臓がんの指標とされる alpha-fetoprotein: AFP (分子量: 70 kDa)を選定し、このタンパク質に特異的に結合するアプタマーを用いた。DNA オリガミの合成のため、200種類以上のDNAとアプタマーを混合し、80°Cで10分間加熱後、冷却した。DNA オリガミと相補的な塩基を有するチオール修飾DNA 0.1 μMを水晶振動子上の金電極上に修飾した後、アプタマー修飾DNA オリガミ 2 nMを電極上に固定した。DNA オリガミが固定されたセンサチップを周波数カウンタに組み込み、シリンジポンプにてバッファを送液した。送液下での周波数が安定した後、AFP 5 μg/mlを注入し、タンパク質アプタマー相互作用由来の周波数変化を測定した。検出性能比較のため、アプタマー0.1 μMのみを修飾したセンサでも同様にAFP 5 μg/mlに対する周波数変化を測定した。

## [結果]

DNA オリガミの電極への固定化を確認するため、原子間力顕微鏡:AFMを用いて評価した。Fig.1から70 nm×90 nmの長方形のDNA オリガミを確認し、2.0 μm角当たりの欠損を含まないDNA オリガミの収率は85.8%であった。Fig. 2にAFP 5 μg/mlに対するアプタマーを有するDNA オリガミ修飾センサとアプタマーのみを修飾したセンサによる周波数変化を示す。アプタマー修飾DNA オリガミセンサを用いることで、タンパク質が結合した際の周波数変化が-15.8 Hzから-26.8 Hzに増加し、周波数変化の増幅率は1.7と算出された。アプタマー修飾DNA オリガミを電極上に修飾することで、タンパク質アプタマー相互作用に対するQCM センサの検出性能の向上可能性が示された。

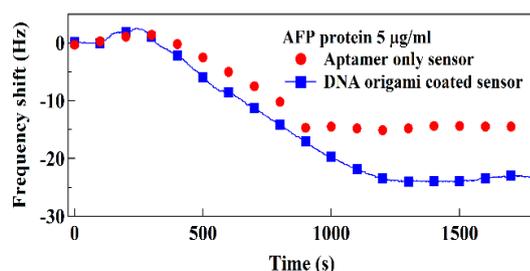
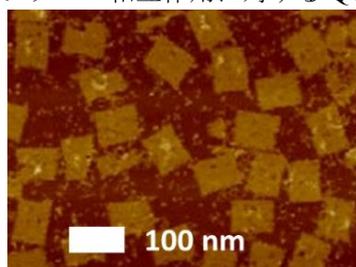


Fig. 1. AFM image of aptamer modified DNA origami on Au electrode. Fig. 2 Frequency shifts on the protein-aptamer interaction.

[1] M. Godonoga et. al., Scientific Reports, 6 (2016) 21266

[2] G. Sauerbrey, Z. Phys. 155 (1955) 206–222.