

低侵襲ナノワイヤー遺伝子導入の開発

Low invasive nanowires gene delivery system

北大情報院¹, 北大電子研², ルーバン大学³ ○石田 拓都^{1,2}, 猪瀬 朋子², 平井 健二²,
雲林院 宏^{2,3}

Hokkaido Univ.¹, RIES², KU Leuven³, °Takuto Ishida¹, Tomoko Inose², Kenji Hirai²,
Hiroshi Uji^{2,3}

E-mail: t-ishida@eis.hokudai.ac.jp

【緒言】 遺伝子導入は、がんや先天性・後天性の遺伝疾患の治療、DNA ワクチンの開発などに繋がる技術として注目されている。現在、マイクロインジェクションやエレクトロポレーションが広く用いられているが、細胞へのダメージが避けられないだけでなく、細胞内の任意の位置に確実に遺伝子導入することが難しいという課題がある。本研究では、本研究室で開発した単一細胞内視鏡技術を応用し¹、銀ナノワイヤー (AgNWs)を用いて、高効率かつ細胞へのダメージを最小限に抑えた遺伝子導入法を新たに開発するため、核内に DNA を導入可能なプローブの作製と DNA 修飾の最適化を行った。AgNWs 表面に効率よく DNA を担持させるため、本研究ではまず AgNWs 表面にカチオン性ポリマーであるポリエチレンイミン(PEI)を被覆し、その後 DNA を修飾する際の条件を検討した。

【実験結果と考察】 使用する直径約 200 nm の AgNWs は、ポリオール法によって合成した (Fig. 1)。その後、PEI の表面修飾を行った。具体的には、Milli Q に分散させた AgNWs 1 mL と 50 mg/mL PEI 水溶液 1 mL を常温環境下で 15 分間攪拌させた。AgNWs と PEI_AgNWs のゼータ電位を測定した結果、AgNWs のゼータ電位が -21.8 mV であったのに対し、PEI 被覆後は 66.9 mV となり、静電的相互作用により AgNWs 表面への PEI 修飾に成功した。続いて、蛍光分子である Cy3 が修飾された λ DNA の、PEI_AgNWs への表面修飾を試みた。具体的には、タングステンワイヤーに固定化した 1 本の PEI_AgNWs 先端部を λ DNA 溶液に 3 分間浸した。その後 Milli Q で先端部を洗浄し、530 nm のレーザーを用いて λ DNA の蛍光観察を行った (Fig. 3)。Fig. 3(a)は、 λ DNA を修飾したナノワイヤーの透過像、Fig. 3(b)が対応する蛍光像である。Fig. 3(b)より、 λ DNA を修飾した PEI_AgNWs の先端部から Cy3 由来の蛍光を確認することが出来たため、PEI_AgNWs に λ DNA が修飾されていることが確認された。本発表では、本 DNA 修飾 AgNWs を実際に細胞核に挿入した際の、核内への DNA 放出時間変化についても報告する。

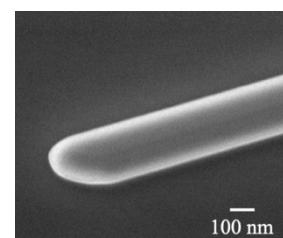


Figure 1: SEM image of AgNWs

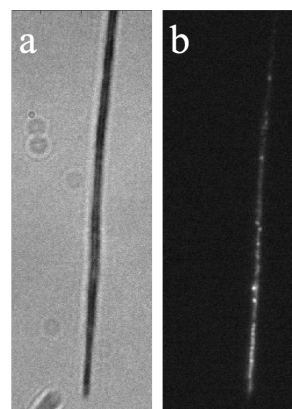


Figure 3: (a) Optical, (b) fluorescence images of λ DNA attached PEI_AgNWs

[1] H. Uji-i *et al.*, *Adv. Mater.*, **2014**, 26, 5124-5128.