

Confidential (2022/1/10)

異種プローブ微粒子による DNA の固液界面での光誘導検出 Light-induced Detection of DNA by Heterogeneous Probe Particles at the Solid-liquid Interface

阪府大院理¹, 阪府大 LAC-SYS 研(RILACS)², 阪府大院工³, 阪大院基礎工⁴

○大間知 誠也^{1,2,3}, 林 康太^{1,2,3}, 高木 裕美子^{1,2}, 田村 守^{2,4}, 床波 志保^{2,3}, 飯田 琢也^{1,2*}

Grad. Sch. Sci.¹, RILACS², Grad. Sch. Eng.³, in Osaka Pref. Univ., Grad. Sch. Eng. Sci. in Osaka Univ.⁴

○Seiya Oomachi^{1,2,3}, Kota Hayashi^{1,2,3}, Yumiko Takagi^{1,2}, Mamoru Tamura^{2,4}, Shiho Tokonami^{2,3}, Takuya Iida^{1,2*}

*E-mail: t-iida@p.s.osakafu-u.ac.jp

がん患者の血液中には、がん細胞由来のタンパク質や、細胞の死滅によって放出される Cell-free DNA(cfDNA)などの生体ナノ物質が含有されており、バイオマーカーとして注目されている。しかし、血液や尿などの体液中に含まれるバイオマーカーは低濃度で、従来の検出法では検出精度や時間に課題があるため、新しい検出法が望まれている。これらの課題解決のため、光の電磁気学的な相互作用に由来する光誘起力と、熱流体力学的な相互作用に由来する光誘起対流の相乗効果を利用して、液滴中の DNA 修飾ナノ粒子とターゲット DNA の二重鎖形成の光誘導加速や、マイクロ流路内の動的流体中での光誘起バブルとタンパク質の濃縮による迅速高感度検出の提案が行われた[1,2]。しかしながら、プローブ粒子がナノスケールの場合には光誘起力が小さく、対流や圧力駆動流の補助が必要であった。そこで我々は Fig.1 (a)のように、Mie 散乱により光誘起力が強く作用するマイクロ粒子(Probe 1)と、局在表面プラズモンの効果が顕著に発現する金ナノ粒子(Probe 2)の各々に生体ナノ物質と分子認識で選択的に結合する分子を修飾して用いることで、光圧による選択検出の高効率化を可能とする『ヘテロプローブ光濃縮法』を着想した。特に本研究では、マイクロウェル中の静的流体中において、DNA を修飾した異種プローブ微粒子を固液界面にレーザー光照射により押し付けることで標的 DNA との二重鎖形成の加速を試みた。

具体的には、倒立型顕微鏡を用いて、マイクロウェル天井の固液界面に下方から打ち上げ式でレーザー光照射を行い、標的 DNA と Probe 1,2 を光誘起集合して光学的評価を実施した。例えば、Fig.1 (b), (c)では標的 DNA を蛍光染色した場合の結果を示したが、マッチング DNA を標的とした場合の方が、ミスマッチ DNA の場合よりもスポットに形成された集積構造体から強い蛍光が得られることを確認した。これは、集積した粒子間にマッチング DNA が二重鎖形成により選択的にトラップされたためと考えられる。また、標的 DNA 濃度を 0~10 nM の低濃度の範囲で変化させたときに、蛍光強度と正の相関があることも確認した。本研究の成果は、光誘起対流や圧力駆動流の補助が無い場合でも光圧により高効率にプローブ粒子を集積して、選択的に微量 DNA の検出を可能とする光誘導加速検出の新機構を提供するものである。

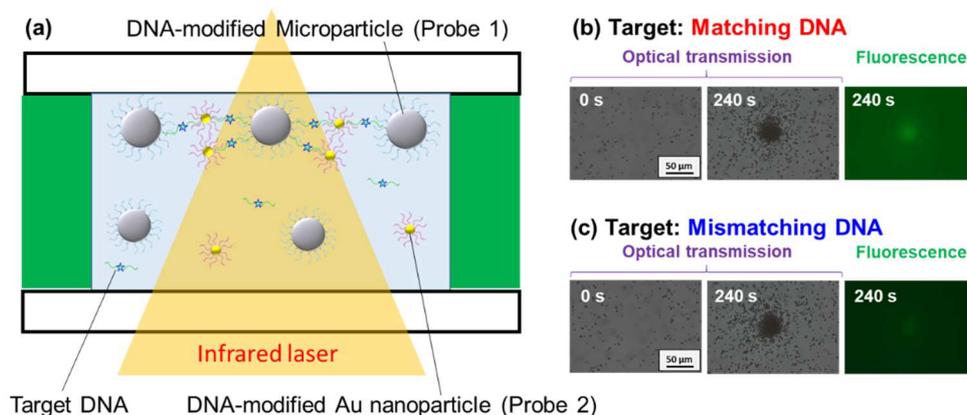


Fig. 1 (a) Schematic view of hetero-probe optical condensation method. Optical transmission and fluorescence images of results for (b) matching DNA and (c) mismatching DNA after laser irradiation.

[1] T. Iida, Y. Nishimura, S. Tokonami, et al., *Sci. Rep.*, **6**, 37768 (2016)

[2] M. Ueda, S. Tokonami, T. Iida, et al., *APL Photonics*, **4**, 010802 (2019)