

DNA 修飾金ナノ粒子を用いた DNA 検出の高感度化

【概要】

金ナノ粒子の水溶液は分散状態では赤色を、凝集状態では青紫色を呈します。標的分子の存在下でのみ金ナノ粒子の溶液色変化を引き起こすことにより、様々な分子の比色検出が行われてきました。特に、1本鎖 DNA を修飾した金ナノ粒子を用いた DNA 検出は様々な遺伝子診断に利用されています。

本研究では、修飾 DNA 密度の異なる金ナノ粒子を合成し、複数の架橋型凝集モデルを用いて DNA 検出を行いました。その結果、修飾 DNA 密度が低い金ナノ粒子ほど、より高感度に標的 DNA を検出できることを示しました。また、凝集モデルの差異で検出感度に有意な差があることを明らかにしました。さらに、低密度の DNA 修飾金ナノ粒子では、修飾 DNA と標的 DNA による二本鎖形成の効率が向上することを示しました。本研究の結果は、金ナノ粒子を用いた遺伝子診断のさらなる高感度化のための基盤になることが期待されます。

本研究に関する論文は、アメリカ化学会 (ACS) の学術雑誌「Langmuir」に掲載され、オンライン版で公開されました(2025 年 2 月 17 日(日本時間))。

【詳細】

直径が数～数十ナノメートルの金ナノ粒子の水溶液は、分散状態では赤色を呈しますが凝集状態では青紫色へと変色します。この特性を利用して、標的分子の存在下においてのみ金ナノ粒子の凝集体を形成させることにより、様々な分子の比色検出が行われてきました。特に、1本鎖 DNA を修飾した金ナノ粒子を用いた DNA 検出は、標的特異性・迅速性に優れるため様々な遺伝子診断に利用されています。

我々はこれまでに、凍結法及び Ethylene glycol を用いることにより、金ナノ粒子表面に修飾された DNA の密度を制御する方法を確立しました。また、金ナノ粒子の非架橋型凝集を用いた標的 DNA 検出において、修飾 DNA 密度が低い金ナノ粒子ほど、より高感度に標的 DNA を検出できることを明らかにしました(例:プレスリリース 2023 年 10 月 20 日)。しかしながら、架橋型凝集(メカニズムの異なる金ナノ粒子凝集)を用いた標的 DNA 検出における密度制御の影響については明らかではありませんでした。そこで本研究では、凍結法及び Ethylene glycol を用いて様々な密度に制御した DNA 修飾金ナノ粒子を合成し、架橋型凝集を用いた標的 DNA 検出への修飾 DNA 密度制御の影響を評価しました。さらに、複数の架橋型凝集モデルを用いることにより検出感度への架橋機構の影響を評価しました。

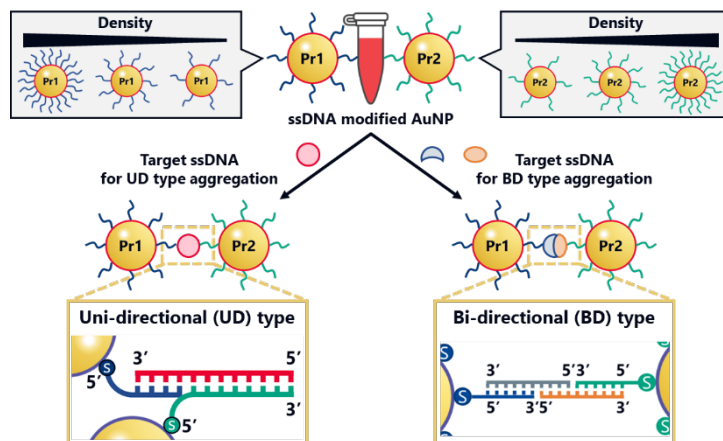


図 密度制御した DNA 修飾金ナノ粒子を用いた標的 DNA 検出及び使用した架橋型凝集モデルの概要図
(論文より許可を得て引用)

本研究では、金ナノ粒子の架橋型凝集を用いた標的 DNA 検出において、修飾 DNA 密度が低い金ナノ粒子ほど、より高感度に標的 DNA を検出できることを示しました。また、凝集モデルの差異で検出感度に有意な差が得られ、架橋機構が標的 DNA 検出の感度に影響を与えることを明らかにしました。

さらに、修飾 DNA 密度の低下に伴い、修飾 DNA と標的 DNA による二本鎖形成の効率が向上することを示しました。これは、修飾 DNA が減少したことにより、金ナノ粒子表面の立体障害が緩和されたためであると考えられます。DNA 修飾金ナノ粒子の架橋型凝集は標的 DNA との二本鎖形成により引き起こされるため、修飾 DNA 密度が低下するにつれて二本鎖形成効率が向上した結果、検出感度が向上したことが示唆されます。本研究により、今後の遺伝子診断のさらなる高感度化が期待されます。

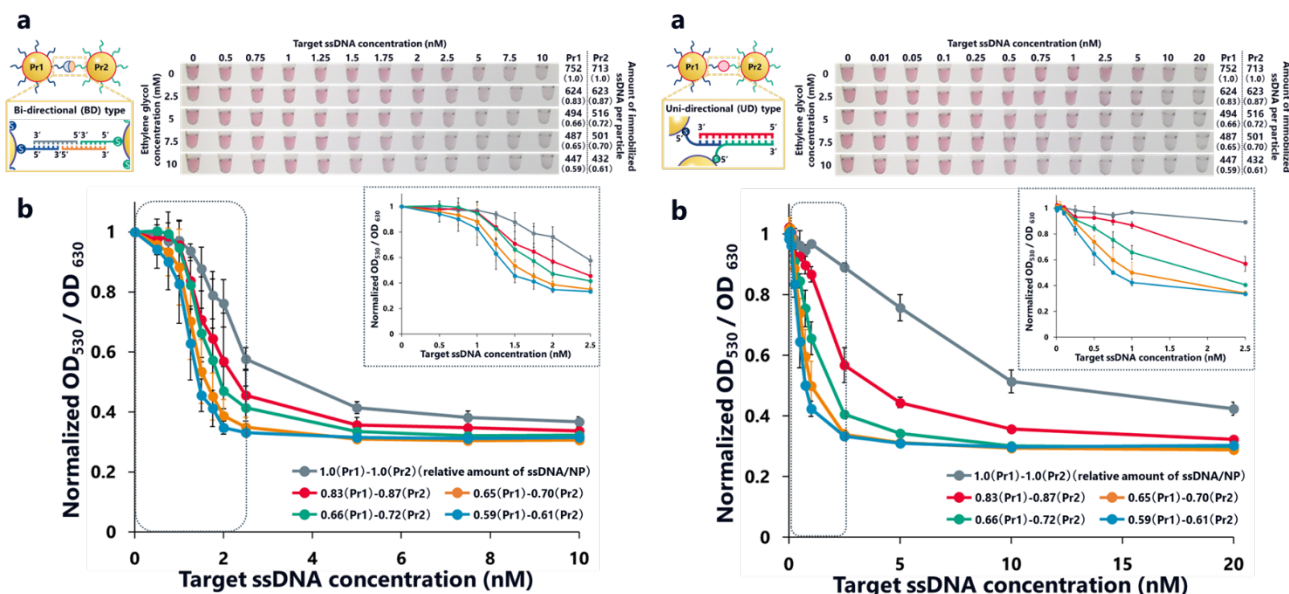


図 BD type 凝集を用いた標的 DNA 検出の結果

a) 様々な濃度の標的 DNA を加えたときの溶液色変化.

b) a)の溶液の吸収スペクトルから求めた OD₅₃₀/OD₆₃₀ 値 (標的 DNA 濃度 0 nM での値を 1 として規格化) (論文より許可を得て引用)

図 UD type 凝集を用いた標的 DNA 検出の結果

a) 様々な濃度の標的 DNA を加えたときの溶液色変化.

b) a)の溶液の吸収スペクトルから求めた OD₅₃₀/OD₆₃₀ 値 (標的 DNA 濃度 0 nM での値を 1 として規格化) (論文より許可を得て引用)

Reprinted with permission from Langmuir 2025. Copyright (2025) American Chemical Society.

【用語解説】

DNA 修飾金ナノ粒子の非架橋型凝集を用いた標的 DNA 検出

1 本鎖 DNA を修飾した金ナノ粒子は、塩存在下で修飾 DNA に対して完全相補的な標的 1 本鎖 DNA を加えると凝集体を形成する。一方、外側末端にミスマッチが生じるような 1 本鎖 DNA を加えても凝集体を形成しない。これは、比較的柔軟で運動性の高いミスマッチ部位近傍では、立体的な斥力が生じるためであると考えられている。それに対して、末端が相補的な場合、Van der Waals 力が斥力に勝り、塩による粒子間の静電反発力低下と合わさって凝集体を形成する。

DNA 修飾金ナノ粒子の架橋型凝集を用いた標的 DNA 検出

2 種類の 1 本鎖 DNA をそれぞれ修飾した金ナノ粒子の混合溶液に対して、塩存在下で修飾 DNA とそれぞれ相補的な配列を持つ標的 DNA を加えると凝集体を形成する。これは、修飾 DNA と標的 DNA の間の相補鎖を介して、金ナノ粒子が架橋を作るように接近、凝集するためであると考えられている。

【研究体制と支援について】

本研究は、愛媛大学理学部を中心に、工学部、プロテオサイエンスセンター、並びに理化学研究所との共同研究として行われました。また、研究の実施にあたっては、日本学術振興会(JSPS)科学研究費助成事業、愛媛大学リサーチユニット「先端ナノ・バイオ分析研究ユニット」の支援を受けました。

【論文タイトルと著者】

掲載誌 : Langmuir

DOI : 10.1021/acs.langmuir.4c04343

題名 : Effect of DNA density on nucleic acid detection using crosslinking aggregation of DNA-modified gold nanoparticles

著者 : Yuki Tanaka, Gen Hirao, Nanami Fukuzumi, Tsuyoshi Asahi, Mizuo Maeda, Atsushi Ogawa and Tamotsu Zako

責任著者 : 座古保(愛媛大学)

【本件に関する問い合わせ先】

愛媛大学大学院理工学研究科(理学部化学コース)

教授 座古 保(ざこ たもつ)

Mail: zako.tamotsu.us@ehime-u.ac.jp