

4P066

液相レーザーアブレーションによる DNA 修飾金ナノ粒子の生成と DNA 分子量の影響

(中央大院・理工) 橋本 奈緒美, (Laser Zentrum Hannover) Annette Barchanski, Svea Petersen,

Stephan Barcikowski

1. 緒言

金属ナノ粒子、特に表面プラズモン共鳴を持つナノ粒子は、生体材料との複合化が容易にできることや、光散乱強度が強く蛍光分子で問題となる消光などが起こらないことから次世代材料として注目を浴びている。金属ナノ粒子の作製方法の一つに、液相レーザーアブレーション法がある。この方法は超短波長レーザーを水中に浸漬した金属板に照射するものであり、短時間かつ極めて簡便に金属粒子を作製することができる[1]。また、金属粒子の作成過程において界面活性剤等の保護剤を必要としないことから表面修飾されていない粒子が作製される。したがって、粒子表面への様々な機能性分子の修飾が可能であり、金属ナノ粒子の機能性材料化が容易となるメリットがある[2]。本研究では、特に遺伝子診断への利用が期待される DNA 修飾金ナノ粒子の作製を行った。アブレーションを行う溶液中にあらかじめ表面修飾する DNA を溶解し、粒子作製と同時に表面修飾を実現することを目指した。さらに、表面修飾および結合に対する DNA の鎖長の影響について検討を行った。

2. 実験方法

あらかじめ DNA を溶解した水溶液中に金板を浸漬し、レンズにより集光したフェムト秒レーザーを金板に照射することで、DNA 修飾金ナノ粒子を作製した。この時用いた DNA は、シーケンサーのみの DNA、および末端にチミンを 10 連ねたスパーサーを含む DNA の 2 種類を用いた。レーザー照射した溶液を遠心分離により沈殿と上澄み液に分離した。遠心分離によって分離した沈殿物および上澄み液をそれぞれ、紫外可視分光光度計により吸光度測定を行った。沈殿物の吸光度から表面修飾された金ナノ粒子の濃度を、また上澄み液の吸光度からナノ粒子に修飾しなかった DNA の濃度を算出した[3]。これらの結果から、ナノ粒子に修飾した DNA の割合を計算した。さらに、これらの計算結果を、1 粒子あたりの DNA 結合量に換算した。

3. 結果と考察

金板を浸漬した DNA 含有水溶液にレーザーを照射すると、溶液の色が無色透明から鮮やかな赤色

に変化した。これにより、金ナノ粒子が生成されたことを確認した。また、この試料を遠心分離にかけ、ナノ粒子を沈殿させた後、上清の UV 吸収スペクトルを測定した所、溶液中に含まれる DNA 量の減少が見られた。このことから、上清中における DNA 減少量が、金ナノ粒子に結合量であると考えられる。

次に、これらの結果を元に、ナノ粒子の表面修飾および結合に対する DNA の鎖長の影響について検討を行った。ナノ粒子に修飾した DNA の修飾効率の比較を図 1(a)に、1 粒子あたりの DNA 結合量の比較を図 1(b)に示す。横軸はどちらも、ナノ粒子個数に対する DNA 数の割合を示している。スペーサー無しの DNA を用いた方が、ナノ粒子への修飾効率および 1 粒子あたりの DNA 結合量が大きくなった。これは、スペーサーが金ナノ粒子への修飾に負の効果をもたらしていると解釈できる。スペーサーの存在する DNA は鎖長がより長くなるため、非常に曲がりやすい。そのため、スペーサーを持つ DNA は金ナノ粒子表面における 1 分子の存在範囲が大きくなり、1 粒子あたりの DNA 結合量および修飾効率が減少したと考えられる。

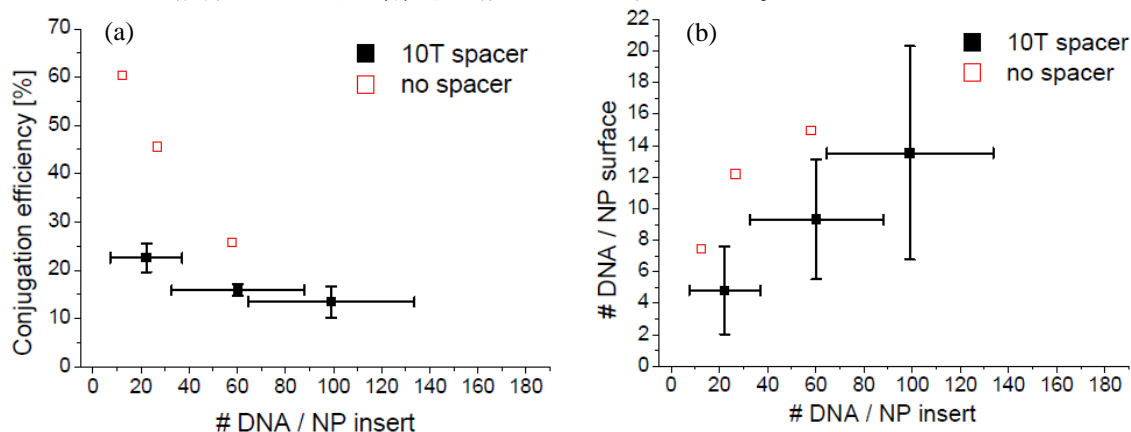


図 1. スペーサーの有無による金ナノ粒子-DNA 修飾割合 (a) と表面修飾量 (b)の比較

4. 結論

あらかじめ溶液中に DNA を溶解させておくことで、粒子作製と同時に DNA を表面修飾することが出来た。金ナノ粒子に修飾する DNA は、鎖長が結合量に影響しており、鎖長が短い方がナノ粒子への修飾効率が高いことがわかった。これは、鎖長が長いほど分子全体が曲がりやすくなり、ナノ粒子の周りを沿うように存在してしまうため、DNA1 分子が占める面積が大きくなり、結合量が減少してしまったと考えられる。

参考文献

- [1] S. Barcikowski, *Applied Physics A*, **87**, 47-55, 2007
- [2] S. Petersen, *Applied Surface Science*, **255**, 5435-5438, 2009
- [3] S. Petersen, *J. Phys. Chem. C*, **113**, 46, 19830-19835, 2009