

磁性ナノ粒子を用いたフローインジェクション DNA 検出システム

大阪府立大学 産学官連携機構 先端科学イノベーションセンター

村中祐輔, 椎木 弘

検出や化学反応の詳細を調べるために、放射性同位元素や蛍光色素、酵素などにより目的物質（抗体など）を標識する手法（標識化法）が様々な分野で広く利用されている。

特に最近では、金属ナノ粒子による標識化について多くの報告がされている。金属ナノ粒子は、ナノメートルスケール化に伴い表面プラズモン共鳴などの特異的な現象を発現するなど、ユニークな光学的、電気的性質を有する。この金属ナノ粒子を標識として用いる手法は、DNAの高感度検出をはじめとするバイオセンシングに新しい可能性をもたらす。

その中でも特に磁性ナノ粒子 (MNPs) は、その大きな表面積に加え、簡易な操作性のために、濃縮や分離に基づく高感度化や分析操作の簡略化に利用されている。

そこで、本稿では今まで少なかった、MNPs そのものを標識として用いた例について紹介する。

Fig.1 に MNPs を標識として用いた DNA 検出法を示す。チオール化した DNA は金電極に硫黄原子と金との親和力の強さにより固定され、これがターゲット DNA (tDNA) の一端とハイブリダイズする (I)。tDNA と完全塩基ミスマッチの塩基配列を持つバイオバーコード DNA (bbcDNA) と、完全に相補的な配列を持つプローブ DNA (pDNA) は、MNPs の表面に導入したカルボキシル基とアミド結合により固定する (II)。pDNA は tDNA のもう一端とハイブリダイズする。pDNA と bbcDNA の 2 種類の DNA を MNPs に固定化することにより、余分な交差反応を抑えて検出感度を高めることができる。そして硝酸溶液中で MNPs から溶け出す Fe^{3+} を定量することで、tDNA を定量することができる (III)。

アルカリ性の水溶液中、ルミノールは過酸化水素と反応して強い紫青色の発光 (460 nm) を示す。この反応は銅、コバルトなどの遷移金属およびその錯体、ある種の酵素によって触媒される。この化学発光を利用して Fe^{3+} を定量する (Fig.2)。

MNPs 標識した pDNA の塩基配列が tDNA に対して完全ミスマッチ、一塩基ミスマッチの場合、そして完全に相補的な場合の化学発光シグナルは、本システムが高い選択性と感度および精度 (2.8%RSD) を有することを示した (Fig.3)。

以上、MNPs 標識を用いたフローインジェクション化学発光検出法の特徴をまとめると、高い選択性と感度、精

度を持つため、濃縮する手間が省ける。低濃度の硝酸水溶液を用いることで MNPs からのイオンの溶出 (Fe^{3+}) が可能であるため、複雑な装置や高価な試薬が必要ないことなどである。

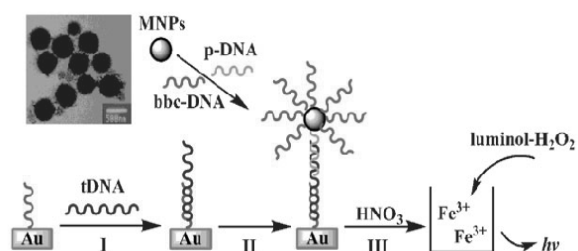


Fig.1 MNPs を標識として用いた DNA 検出法の概念 (I) tDNA を捕捉、(II) 磁性ナノ粒子で標識、(III) 硝酸水溶液中に溶出した Fe^{3+} を検出。

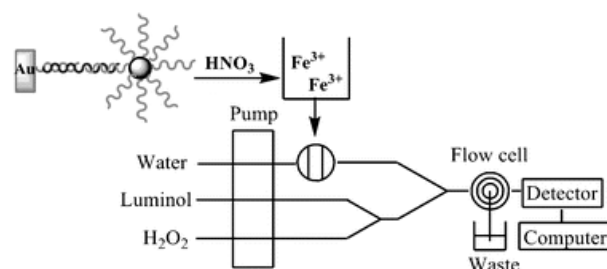


Fig.2 フローインジェクション化学発光システムの概要 ルミノールと過酸化水素を混合してからサンプルを注入する方式が最も信号強度が高い。

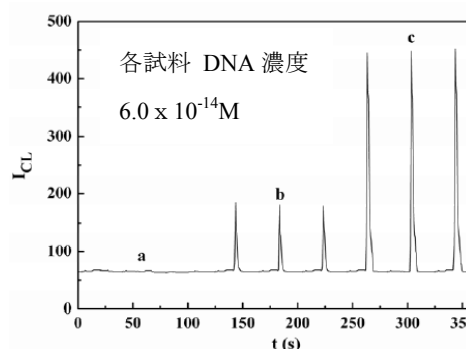


Fig.3 本システムにより得られた化学発光シグナル tDNA に対する pDNA 塩基配列が完全ミスマッチ(a)、一塩基ミスマッチ(b)、相補的(c)である場合の化学発光の信号強度。

Reference

S. Bi, H. Zhou, S. Zhang, *Chem. Commun.*, 2009, 5567-5569.