

シリカ単分散粒子を用いた DNA の 電気泳動分離に関する研究

[1] 組織

代表者：新井 貴司
(沼津工業高等専門学校物質工学科)
対応者：鈴木 久男
(静岡大学電子工学研究所)
分担者：
大野 智也
(北見工業大学マテリアル工学科)

[2] 研究経過

種々の DNA の分離・解析方法としては、ゲルを用いた電気泳動法などがある。高い分離能と高速分析が可能な DNA 解析方法の開発はまだ研究段階にとどまっている。この原因として、長さや表面修飾基の異なる DNA の溶媒中での電気泳動挙動や他の溶媒中の物質との相互作用(のメカニズム)が確認ができていないことを挙げることができる。本研究の目的は、長さの異なる DNA とシリカ単分散粒子との相互作用のメカニズムを解明するとともに、種々のサイズをもった表面修飾したシリカ単分散粒子特性を溶媒中に分散して、その体積割合や表面状態が DNA の分離能に及ぼす影響を明らかにすることにある。シリカ単分散粒子はいわゆる Stober 法で作製できるが、その表面を種々の有機基で修飾して表面状態を制御する。合成したシリカ単分散粒子の溶媒中での体積割合などを変化させて実際に DNA の分離実験を行い、種々の条件が分離能に与える影響と DNA とシリカ表面との相互作用のメカニズムを明らかにする。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。
まず第 1 に、安価な単分散シリカナノ粒子を用いたマイクロキャピラリーを泳動流路中に人工的に設計し、DNA との相互作用を制御することで、各種の DNA に対する分離能力を大幅に改善できることを明らかにした。現在までの所、140nm と 20nm の単分散シリカナノ粒子の組み合わせとそれらの混合比率を制御することで、高い DNA 分離能力を発

揮できることを明らかにしてきた。しかし、他分散シリカナノ粒子の粒径は種々制御でき、種々の組み合わせが可能であることから、今回の結果が最適な設計であったかどうかは分からない。そこでまず第一に、実験的に大きさの異なるシリカ単分散ナノ粒子を数種類作製し、種々の組み合わせをトライアルアンドエラーで検証する必要があると思われた。この様な努力により、各種の特殊な例えば緑膿菌などの DNA に対する分離能が飛躍的に改善され、実用化への道が開ける可能性がある。

次に、今後さらにこの方法の特性を改善するためには、シミュレーションなどにより DNA に対する最適キャピラリー設計を試みる必要があることを明らかにできた。また、単純な物理的スペースや確率によるシミュレーションだけではなく、例えば、DNA とシリカ単分散ナノ粒子の表面との相互作用の強さなどによっても DNA 分離能に影響を受ける可能性があり、シミュレーション及び実験的にこれらを検証して行くことが重要であることも明らかとなった。

また、とりあえず本研究では、分離モデルとして Reputation モデルを考えて研究を進めてきたが、Ogston モデルなどの他のモデルについても妥当性を検証する必要があると思われた。

さらに、単分散シリカの粒径についても、2 種類は検討してきたが 3 種類以上の組み合わせについては未解決のままである。そして、シリカ単分散ナノ粒子と各種 DNA の表面との相互作用を制御する目的で、単分散粒子表面にナノコーティングを施して分離実験を実施することで、表面の相互作用が DNA 分離能に及ぼす影響の解明も期待される。

実際のデバイスとして用いる場合、流路の長さや形状あるいは材質などによっても DNA の分離能に対する影響が懸念される。すなわち、今後の実用化を見据えた開発には非常に多くの因子が残されており、種々の因子を最適化する努力が不可欠と思われた。

一方で、本研究の段階でも Nature に投稿されたラテックスナノ粒子を用いた結果とほぼ同等の結果が得られており、種々の因子の最適化を進めることで実用化可能なデバイスに繋がるものと期待される。

今後は、対象とする DNA の種類も含めて、実デバイスへの応用を検討する実験が望まれるところである。

(3-2) 波及効果と発展性など

本研究成果では、比較的短い DNA に対する高い分離能を安価で粒径制御が容易なシリカ単分散粒子で実現できることを明らかにしてきた。一方で、推測されたモデルから 2 種類のシリカ単分散粒子の組み合わせを用いることで、分離能を大幅に改善できることを示した。

本研究で行った実験から、すでに述べたように種々の因子が DNA の分離能に影響を及ぼすことが推測された。したがって、今後は予想される因子に対して、例えば実際にシリカ単分散ナノ粒子の粒径を数種類用意して、3 種類までの組み合わせの DNA 分離能に対する影響を検討して行く必要があると思われる。さらに、知り多端分散ナノ粒子の表面特性を化学修飾により制御して、より高い分離能を目指すことも可能であると思われる。

これらの最適化には多くの時間が必要と思われるが、最適化が実現した暁には非常に優れた小型の DNA 検出装置の安価な製造が実現できるものと期待される。

このため、今後はこの方向で研究を進めていく予定である。また、この研究テーマで外部資金の獲得も目指していく予定である。

[4] 成果資料

(1) T. Ohno, T. Masuda, S. Ochibe, S. Hirai, H. Suzuki, T. Arai, N. Sakamoto, N. Wakiya and T. Matsuda, "Effect of the reduction condition on the catalytic activity for steam reforming process using Ni doped LaAlO₃ nano-particles" *Adv. Powder Technol.*, 27 (2016) pp.179-183

(2) "Induced Effect of Piezoelectric Thin Films on Si Substrate", Hisao Suzuki, Takashi ARAI, Tomoya OHNO, Naonori SAKAMOTO, Naoki WAKIYA, The 33rd International Korea-Japan Seminar on Ceramics, Eco-materials Processing and Design (ISEPD 2017) November 16-19, 2016, DCC Daejeon, Korea, Invited

(3) "Low-temperature Crystallization of Ion-conductive Cubic Li₇La₃Zr₂O₁₂ Nanoparticles", Hisao Suzuki, Jeevan Kumar Padarti, Mamoru SENNA, Kenta Nishimura, Naonori SAKAMOTO, Naoki WAKIYA, HTCMC 9 & GFMAT 2016, Advanced Functional Materials, Devices, and Systems for

Environmental Conservation and Pollution Control, June 26 – July 1, 2016 | Toronto Marriott Downtown Eaton Centre Hotel, Invited

(4) "Low-temperature crystallization of α-Al₂O₃ powder from molecular-designed precursors", Hisao Suzuki, Saki SUZUKI, Syogo SUZUKI, Naonori SAKAMOTO, Takahiko Kawaguchi, Naoki WAKIYA, The 18th International Symposium on Eco-materials Processing and Design (ISEPD 2017) February 17-20, 2017, Okinawa, Japan

出張報告

氏名：大野 智也

所属：北見工業大学

期間：平成28年10月22日～23日

用務先：静岡大学

用務内容：プロセス研究会の参加

主たる対応者：鈴木 久男