DDS に向けたナノ粒子内包 DNA ナノ構造体の創製

大阪産業技術研究所

斉藤大志

【研究背景】

ナノテクノロジーにおける重要な取り組みの1つは、ナノ構造体を精確に組み立て、それらを自在に操 作することである。これらを可能にする手法の確立は、幅広い分野への波及効果(ドラッグデリバリー、 人工筋肉、センサー、超低電力デバイスなど)が期待できる。近年、有望なアプローチの1つとして、 DNA オリガミ法が注目されている¹。DNA オリガミ法では、DNA を構成する相補的な塩基対の水素結合 を利用することで、均一な形状と有限のサイズを備えた複雑な構造の設計・合成を可能としている。具体 的には、長い一本鎖の DNA テンプレート(足場 DNA)と、足場 DNA と相補的な配列を有する短い DNA 鎖(ステープル DNA)とを組み合わせることで、1D~3D の任意のナノ構造を形成することが可能である。 本研究では、DNA オリガミ法を用い中空シリンダー状の DNA ナノ構造体(**DNAhc**)の創製を試みた(図 1a)。この空孔内には様々なゲストを取り組むことが可能であると考えられ、デモンストレーションとし て金ナノ粒子の内包化を試みた(図 1b)。



DNAhc への金ナノ粒子内包化のイメージ図

【結果】

1. **DNAhc** の合成

まず、DNA オリガミ設計支援ソフトウェア cadnano を用いて **DNAhc** の設計を行った²。これに より、目的の **DNAhc** は足場 DNA (M13mp18) と 241 本のステープル DNA から作製できることが 分かった。次に、足場 DNA とステープル DNA を混合したバッファー溶液を熱アニーリング後、限 外ろ過により未反応の足場 DNA とステープル DNA とを除去することで試料を得た。図 2a に試料の アガロースゲル電気泳動の結果を示す。図 2b には、ネガティブ染色した試料の透過型電子顕微鏡

(TEM) 観察の結果を示す。電気泳動および TEM 画像より、**DNAhc** が高い収率で形成され、また 構造が設計された寸法と一致していることが確認できた。

2. DNAhc による ssDNA-AuNP の包接化

次に、DNAhc にナノ粒子を包接化する検討を行った。ナノ粒子としては、オリゴヌクレオチド



図 2. **DNAhc** の合成(a) **DNAhc** のアガロースゲル電気泳動 (b) **DNAhc** の TEM 画像 スケールバ ー:200 nm (大きな像)、20nm (小さな像)

(ssDNA)で装飾された金ナノ粒子 (AuNPs) を別途作製し用いた (ssDNA-AuNPs)³。包接化は、 DNAhc と ssDNA-AuNPs をバッファー溶液中で混合し、その溶液を熱アニーリングすることで行 った。熱アニーリング後、試料を TEM グリッドにキャストし観察を行った。包接化に際し ssDNA-AuNPs は DNAhc との間での立体障害を受けると予想されるが、DNAhc 空孔のサイズが十 分に大きいこと、空孔内部に ssDNA-AuNPs と結合する DNA リンカーを導入していることなどか ら、十分に包接化されることが期待できる。しかし、TEM 観察の結果、大部分の ssDNA-AuNPs は DNAhc に包接化されず、DNAhc の側面に結合していることが明らかとなった(図 3a、b)。また、 図 3b に示した TEM 像より、DNAhc と ssDNA-AuNP の結合 (DNAhc/ssDNA-AuNP) が4 種類に 分類されることが分かり、これは DNAhc と ssDNA-AuNP の間に特定の相互作用があることを示唆 している。観察された4 種類の DNAhc/ssDNA-AuNP について、その TEM 画像と対応する概略図と を共に示した(図 3b)。さらに、TEM 像の分析から、DNAhc/ssDNA-AuNP の 6.0%は ssDNA-AuNPs が DNAhc に包接化された構造だが、70.9%は 2:1 (DNAhc: ssDNA-AuNPs = 1:2) および 1:



図 3. DNAhc と ssDNA-AuNP の結合(a)DNAhc と ssDNA-AuNP の結合(左)および DNAhc によ る ssDNA-AuNP の包接(右)の概略図 (b)DNAhc/ssDNA-AuNP の TEM 画像と統計分析の結果

2 (DNAhc:ssDNA-AuNPs = 2:1) という特定の比率で DNAhc と AuNPs が結合した構造であ った。そして、残りの 15.2%は ssDNA-AuNPs と結合していない DNAhc であった。このような構 造体が形成された一つの可能性として、DNAhc の空孔内に導入した DNA リンカー鎖が空孔内で密 集し、その内の数本が空孔の外部へ露出した結果、DNAhc 空孔の外部で ssDNA-AuNP と結合した ためであると考えられる(図 3a)。

・参考文献

- 1. Dey, S.; Fan, C.; Gothelf, K. V.; Li, J.; Lin, C.; Liu, L.; Liu, N.; Nijenhuis, M. A. D.; Saccà, B.; Simmel, F. C.; Yan, H.; Zhan, P. DNA Origami. *Nat. Rev. Methods Primers* **2021**, *1*, 13.
- 2. Douglas, S. M.; Marblestone, A. H.; Teerapittayanon, S.; Vazquez, A.; Church, G. M.; Shih, W. M. Rapid prototyping of 3D DNA-origami shapes with caDNAno. *Nucleic Acids Res.* **2009**, *37*, 5001–5006.
- 3. Hurst, S. J.; Lytton-Jean, A. K. R.; Mirkin, C. A. Maximizing DNA Loading on a Range of Gold Nanoparticle Sizes. *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 8313–8318.