金/磁性酸化鉄複合ナノ粒子を用いた生体分子の磁気分離

木下卓也、清野智史*、乙咩陽平、興津健二#、水越克彰+、中川貴、中山忠親*、関野徹*、新原皓一*、 山本孝夫

(阪大工、*阪大産研、*阪府大、*阪府高専)

Magnetic separation of the biomolecules using magnetic gold/magnetic iron-oxide composite nanoparticles T.Kinoshita, S.Seino*, Y.Otome, K.Okitsu[#], Y.Mizukoshi⁺, T.Nakagawa, T.Nakayama*, T.Sekino*, K.Niihara*, T.A.Yamamoto

(Grad. School of Eng., Osaka Univ., *ISIR, Osaka Univ., *Osaka Prefecture Univ., *Osaka Prefectural College of Technology)

はじめに

現在、医療・診断分析への応用に向けて、生体分子(DNA、たんぱく質、薬剤など)を磁性ナノ粒子に吸着させ磁気により検出・単離する研究・開発が盛んに行われている。しかし、その吸着力は一般に弱く、またビオチン・アビジンなどの特別な修飾を必要とする。一方、金ナノ粒子は、凝集・分散状態により色調が変化する、-SH 基や-NH2基を介して生体分子と強く結合するという特徴を有するため、ハイブリダイゼーションを利用した DNA の検出への応用が期待されている。我々はこれら両方のナノ粒子を結合させた金/磁性酸化物複合ナノ粒子の合成に成功した 10 。この材料は、生体分子と強く結合する・磁場で分離できる・凝集状態を目視で確認できるという特徴を有することが期待される。本発表では、この磁性複合ナノ粒子表面への生体分子の吸着量の評価について報告する。

実験方法

ガンマ線を用いて合成した、粒径 20 nm の γ -Fe $_2$ O $_3$ ナノ粒子表面に 5 nm の金ナノ粒子が数個 ~ 数十個担持した複合ナノ粒子に、生体分子のモデル物質として-SH 基と-NH $_2$ 基をもつポリペプチドであるグルタチオン(GSH)を吸着させた。まず、複合ナノ粒子の分散液に GSH を添加し、2時間攪拌した後、磁気分離カラム Midi MACSRにより粒子を除去した。粒子に吸着した GSH の量を評価するために、酵素リサイクリング法を用いた紫外可視吸光度測定から非磁性溶液に残留する GSH の濃度を求めた。比較のために、ガンマ線で合成した金ナノ粒子に対する吸着量と、PVA 添加・無添加の γ -Fe $_2$ O $_3$ ナノ粒子に対する吸着量も評価した。

結果と考察

まず、磁気分離カラムに GSH が吸着しないことを確認した。 Table 1 にそれぞれのナノ粒子への GSH の吸着量を示す。 γ -Fe $_2$ O $_3$ ナノ粒子は GSH を吸着するが、PVA により吸着が阻害されることがわかった(3)(4)。ガンマ線で合成した金ナノ粒子は、PVA 存在下において γ -Fe $_2$ O $_3$ ナノ粒子よりも少量であるにもかかわらず、2 倍程度多くの GSH を吸着した(2)(3)。 Au/ γ -Fe $_2$ O $_3$ 複合ナノ粒子は GSH を効率よく吸着し、金と GSH との結合性が複合化により失われないことがわかった(1)。これは生体分子である GSH を複合ナノ粒子に吸着させ、磁場により分離できたことを表し、医療分野での応用が期待される。

	Nanoparticles	Amount of particles (g l ⁻¹)	Polyvinyl alcohol	Adsorbed GSH (μmol l ⁻¹)
(1)	Au/γ-Fe ₂ O ₃	1.1	Contained	72
(2)	Au	0.1	Contained	40
(3)	γ-Fe ₂ O ₃	1.0	Contained	23
(4)	γ-Fe ₂ O ₃	1.0	None	42

Table 1 Adsorption of GSH onto the surface of the nanoparticles

Remarks) 1) Initial GSH concentration was 100 umol 1⁻¹.

2) Au/ γ -Fe₂O₃ = 1/10 in weight ratio.

参考文献

1) S. Seino, T. Kinoshita et al., *Chemistry Letters* (in press)