

有機鎖構造の異なるアミノ基修飾メソポーラスシリカ上への DNA の吸着

(三重大院工) 彦坂諒一・富田昌弘・(産総研) 加藤且也

【諸言】

ほとんどの生物が持っている DNA は、遺伝子解析によるガン抑制遺伝子診断や遺伝子導入など、近年さらに注目を集めている。そのため、DNA の効果的な回収は非常に重要である。細孔構造を有するメソポーラスシリカは高い表面積と細孔体積を示し、吸着材として広く応用されている。DNA の吸着には、シリカ表面を有機鎖修飾してプラス電荷とし、DNA のマイナス電荷との静電相互作用により吸着することが知られており、一般的には 1 つのアミノ基をもつアミノシラン 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES) により修飾されることが多い¹⁾。そこで本研究では、一般に使用されるアミノシランとアミノ基の数及び鎖長が異なる 3 種類のアミノシラン、合計 4 種類を表面修飾剤とし、Sheet 型 MPS²⁾、MCM-41、nonporous spherical silica の 3 種類のシリカを用いて、DNA 吸着を評価した。

【実験方法】

合成したシリカの表面を有機修飾するために、MPS 50 mg をトルエン 10 mL 中に分散させ、アミノシラン[APTES (-NH₂), N-(2-aminoethyl)-3-aminopropyltriethoxysilane (-2ENH₂), N-(6-aminoethyl)aminopropyltrimethoxysilane (-2H₂NH₂), (3-trimethoxysilylpropyl)-diethylenetriamine (-3NH₂)]を 1 mL 加えた。6 時間加熱還流した後、エタノールとアセトンで洗浄して乾燥した。

各サンプル 1.5 mg に 10 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.4) 500 μ L を加えて分散させた後、salmon taster DNA 溶液(300 μ g/500 μ L) を 500 μ L 加えて室温で一晩攪拌し吸着させた。遠心処理後の上清を紫外可視分光光度計にて DNA に特異的な吸収を示す 260 nm の波長でその吸光度を測定した。

【結果と考察】

Fig.1 の TEM 画像に示したように、MPS Sheet は不規則な細孔構造を持つ Sheet 状の凝集体であり、MCM-41 は規則的な細孔構造を持つ 400 nm 程度の球状粒子である。どちらのサンプルも 2~3 nm 付近に細孔径のピークが存在した。DNA 吸着の要因であるアミノ基の表面修飾量は、MPS Sheet と nonporous silica では 1~2 μ mol/mg、MCM-41 では 3~6 μ mol/mg であった。各サンプルへの DNA 吸着量の比較では、Sheet-2H₂NH₂, Sheet-3 NH₂, MCM-4-3 NH₂ が 147.9, 114.6 158.3 μ g/mg と高い値を示し、その他のサンプルは 70 μ g/mg 以下であった。また、シリカの形状やアミノ基の種類による吸着カイネティクスや吸着・脱離速度の違いについても調査した。

1) H. Yang *et al.*, *J. Colloids Interface Sci.*, 2012, **369**, 317. 2) K. Nakanishi *et al.*, *RSC Adv.*, 2014, **4**, 4732.

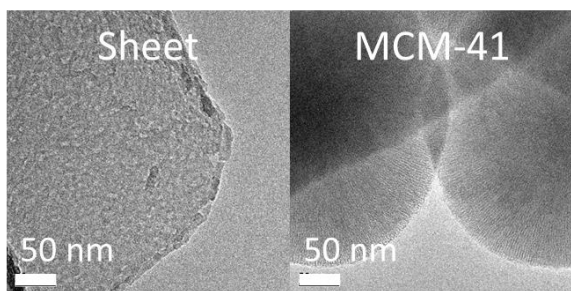


Fig.1 TEM images of MPS Sheet and MCM-41.

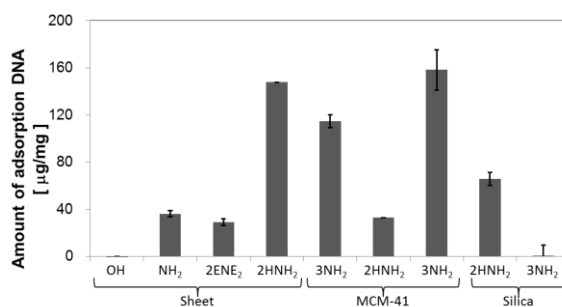


Fig.2 Adsorption amount of DNA on various silica materials.