

DNA 修飾金ナノ粒子の架橋型凝集の単一クラスター解析に基づく核酸検出の高感度化

金ナノ粒子 (AuNP) の溶液色は赤色ですが、凝集形成に伴って青紫色へと変化します。このような性質のため、AuNP は様々な分子の比色バイオセンサーとして応用されています。例えば、一本鎖 DNA (ssDNA) を表面に固定化した金ナノ粒子 (ssDNA-AuNP) の凝集に伴う溶液色変化を利用した核酸検出が報告されています。我々のグループでは、凍結法を用いて ssDNA-AuNP を合成する際に、Ethylene glycol (EG) を添加することにより固定化 DNA 量 (i.e. DNA 密度) を制御する方法を確立し、異なるメカニズムの ssDNA-AuNP 凝集 (架橋型、非架橋型) を用いた比色 ssDNA 検出において、DNA 密度および構造が検出感度の向上に重要なことを報告しました (プレスリリース 2025 年 3 月 19 日「[遺伝子検出における金ナノ粒子表面の DNA の構造と密度の影響](#)」、2025 年 2 月 19 日「[DNA 修飾金ナノ粒子を用いた DNA 検出の高感度化～遺伝子診断の高感度化に向けて～](#)」、2023 年 10 月 20 日「[金ナノ粒子による DNA 検出の高感度化](#)」)。

AuNP は光を強く散乱するため、暗視野顕微鏡 (DFM) を用いて個々の粒子を観察できます。我々はこれまでに、DFM 輝点の強度に基づく単一クラスターレベルでの凝集観察を用いて抗体、アミロイドタンパク質など、様々な分子の高感度検出を達成しました。そこで本研究では、密度制御 ssDNA-AuNP の架橋型凝集を用いた標的 ssDNA 検出のさらなる高感度化を目指して DFM 観察による凝集評価を実施しました (図 1)。

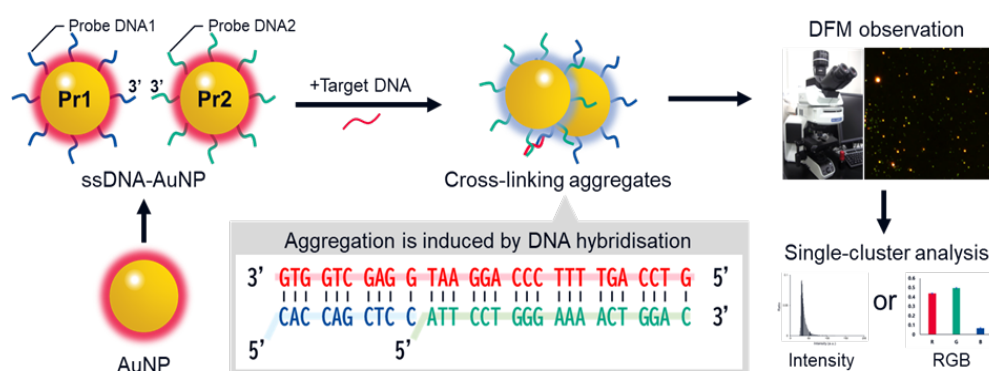


図 1 DFM による ssDNA-AuNP の架橋型凝集の単一クラスター解析を用いた核酸検出

様々な濃度の標的 ssDNA を加えた ssDNA-AuNP 溶液を DFM 観察したところ、分散した ssDNA-AuNP は緑色の暗いスポットとして観察されたが、凝集体は橙色の明るいスポットとして観察されました (図 2a)。散乱光強度に基づく単一クラスター解析を実施したところ、標的 DNA 濃度依存的に凝集割合が増加し、検出限界は 15 pM でした (図 2b)。この結果から、溶液色変化による検出に比べ、約 50 倍の高感度化に成功しました。さらに本研究では、輝点の色変化にも注目し、輝点色を赤 (R) 緑 (G) 青 (B) に色分解し、R/G 値に基づいて凝集評価をおこないました。その結果、11 pM の感度で標的 DNA を検出できることが示されました (図 2c)。

DFM 画像内の個々の輝点の RGB 値の変化を用いた単一クラスター解析を実施したのは本研究が初めてになり、今後、輝点色の詳細な解析によりさらなる高感度化が期待できます。

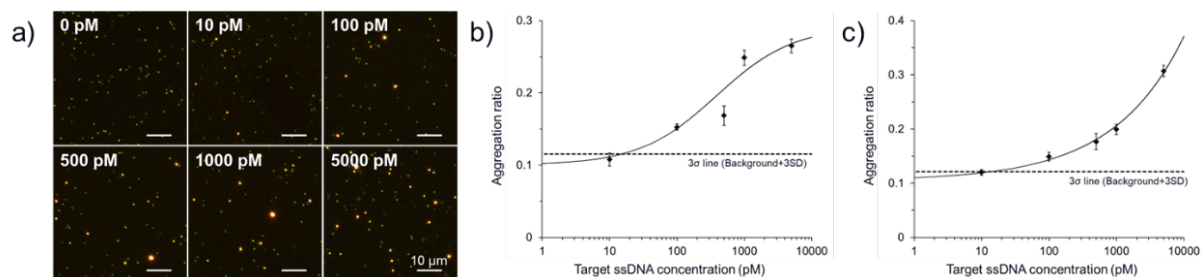
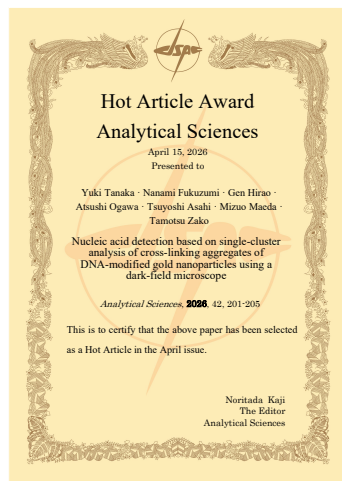


図2 DFM画像の単一クラスター解析を用いた標的DNA検出。(a) 標的DNAを添加したssDNA-AuNPのDFM画像。(b, c) 凝集割合のフィッティング曲線 [散乱光強度(b), R/G値(c)]

本研究成果に関する論文は、日本分析化学会の英文誌「Analytical Sciences」2026年4月号に掲載され、同号のHot Article Awardを受賞しました(下図)。



【本件に関する問い合わせ先】

愛媛大学理学部化学コース

教授 座古 保(ざこ たもつ)

Mail: zako.tamotsu.us@ehime-u.ac.jp