

PEG-DNA複合体を利用した pH応答性DNA四重鎖ゲル

バイオインスパイアード・ハイブリッド材料研究グループ

○福島和季(院生)、田中静磨(院生)

・谷明紀(化学生命工学部 化学・物質工学科 准教授)、大矢裕一(教授)

研究概要・成果

Introduction

DNA Hydrogel
マクロモノマー同士の架橋点部にDNAの相互作用を利用したヒドロゲル

DNA + DNA-高分子複合体 → DNAヒドロゲル

現在のDNAヒドロゲルの問題点
固相合成によりDNAが得られないため、mgスケールの試料しか得られない

Liquid phase synthesis

液相担体 + HO-MPEG → dG₅-PEG-dC₅ (高収量)

PEGを担体とすることで液相合成が可能であり、グラムスケールのDNAを得ることができる

This Study

G-quadruplex gel

Sol state → K⁺, Na⁺ → Gel state

i-motif structure

Low pH (4-5) → High pH

弱酸性条件下において形成する

DNA-PEG-DNAトリブロック体を利用した新たなpH応答性i-motifゲルを構築した

Result and Discussion

Polymer Synthesis

Trichloroacetic acid / dichloromethane (deblocking)

5 cycles

1.75 g, n = 184, Mw = 4,680

+ H4-tetrazole (coupling)

Phosphoramidite monomer (tert-butyl hypophosphite)

縮収率: 2.65 g

縮収率: 77%

conc. NH₃ / 40% methylamine

DNA脱塩基剤処理プログラム

Scheme 1. Synthesis of dC₅-PEG_{4,6k}-dC₅

CD spectra measurement

(a) CD spectra of 25 μM dC₅-PEG_{4,6k}-dC₅ (pH 3.0-7.0) in 0.1 M MES buffer and 140 mM NaCl at 25°C

(b) wavelength at 290 nm

Figure 1. (a) CD spectra of 25 μM dC₅-PEG_{4,6k}-dC₅ (pH 3.0-7.0) in 0.1 M MES buffer and 140 mM NaCl at 25°C and (b) wavelength at 290 nm.

i-motif構造は、pHが3.0から5.0の間で形成されることが確認された。

Gel preparation

試験管傾斜法

25°Cの水浴に10分間ずつ浸漬

試験管を傾斜させて30秒間静置

流れ落ちる (Sol) / 流れない (Gel)

(a) 20wt% (pH 3.3, 1M NaOH, 8.0 μL)

(b) 25wt% (pH 2.9, 1M NaOH, 21.0 μL)

(c) 30wt% (pH 2.6, 1M NaOH, 37.5 μL)

Figure 2. Photographs of (a) 20wt% and (b) 25wt%, (c) 30wt% before and after the adjustment of pH.

Temperature-Responsive Sol-Gel Transition

Temperature (°C) vs Concentration (wt%)

pH 4.2

Figure 3. The temperature-responsive phase diagram of 10-30wt% dC₅-PEG_{4,6k}-dC₅ at pH 4.2 in 0.1 M MES buffer in 140 mM NaCl.

Polymer concentration (wt%)	10	15	20	25	30
Phase transition temperature (°C)	-	17	21	27	36

pH-Responsive Sol-Gel Transition

pH vs Concentration (wt%)

25°C

Figure 4. The pH-responsive phase diagrams of 10-30wt% dC₅-PEG_{4,6k}-dC₅ at 25°C in 0.1 M MES buffer in 140 mM NaCl without and with 20wt% PEG_{4,6k}.

Polymer concentration (wt%)	10	15	20	25	30
Gelation region (pH)	-	17	21	27	36
Gelation region with 20wt% PEG _{4,6k} (pH)	-	17	21	27	36

CD spectra of PEG contained solutions

Figure 5. CD spectra of 25 μM dC₅-PEG_{4,6k}-dC₅ at pH 3.0 and 5.0 with and without containing 20wt% PEG_{4,6k} in 0.1 M MES buffer and 140 mM NaCl at 25°C.

弱酸性条件下においてゲル化した。また、分子クラウディング条件下では、ゲル化するpH領域が広域になった。

Rheological Study

G', G'' (Pa) vs T (°C)

Figure 6. Temperature-dependent feature of storage (G') and loss (G'') modulus for 30wt% dC₅-PEG_{4,6k}-dC₅ in MES buffer in 140 mM NaCl at pH 4.0, 5.0, 6.0 and 7.0. pH変化に応じて、ゲルの力学強度やソル化温度が変化した。

i-motif構造の形成率と相関性がある。

Conclusion

- PEG_{4,6k}を担体とするDNAの液相大量合成により、高収量のdC₅-PEG_{4,6k}-dC₅を合成し、これを用いてpH変化に応じて、弱酸性条件下において即座にゲル化する新たなpH応答性ヒドロゲルの開発に成功した。
- pH変化に応じて、ゲルの力学強度やソル化温度が劇的に変化した。それらはCD測定より得られたi-motif構造の形成率と密接に関連することが確認された。
- dC₅-PEG_{4,6k}-dC₅に適当量のPEG_{4,6k}を添加することによって、クラウディング効果によりi-motif構造が安定化し、より広範囲のpH領域においてゲル化することが確認された。

応用分野、実用化可能分野 医用材料、食品におけるカプセル剤等

問合せ先: 関西大学 化学生命工学部 ・谷明紀 TEL:06-6368-0829 E-mail:kuzuya@kansai-u.ac.jp

関大ORDIST 先端科学技術推進機構

社会連携部 産学官連携センター、知財センター