

DNA四重鎖ナノゲルの細胞取り込み評価

関西大学研究ブランディング事業「人に届く」関大メディカルポリマーによる未来医療の創出
 寺上佳奈*1、阪本康太*1、田中静磨*1、巽康平*1、大矢裕一*2、葛谷明紀*2
 (*1院生)(*2化学生命工学部 化学物質工学科 教授)

研究概要・成果

DNAの液相大量合成

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。
 G. M. Bonora et al., *Biol. Proced. Online*, 1998, 44, 60-69.

研究の背景

DNA四重鎖ゲル

1価の金属イオンK⁺、Na⁺に応じて形成するグアニン四重鎖構造(G4)を架橋点としたヒドロゲル
 S. Tanaka et al., *Chem. Asian J.* 2017, 12, 2398-2392.

研究概要

テロメラーゼ阻害剤として知られているTMPyP4をゲルに内包し、この分子とG4間の相互作用の強さなどによるゲルの放出挙動を調査した。

Ex = 433 nm
 Em = 647 nm
 グアニン四重鎖と特異的に結合する抗癌剤の一種。

TMPyP4のリリース挙動

長時間にわたって緩やかな薬物放出が観察された。

ナノゲルの調製

5wt%のゲルにPBSを1 mL加えナノゲルを調製する。

DLS測定

約 20 nm の粒径を持った会合体が観察された。

AFM測定

20 - 40 nm の粒径を持った会合体が観察された。

CD測定

平行型グアニン四重鎖のCDスペクトルが観察された。
 DNA四重鎖ナノゲルは、グアニン四重鎖構造を架橋点として形成していると考えられる。

細胞取り込み試験

DNA四重鎖ナノゲルから放出された薬物は細胞内に取り込まれた。

抗がん活性試験

DNA四重鎖ナノゲルから核まで届いた薬物は抗癌活性を示しHeLa細胞を死滅させた。

蛍光修飾DNA四重鎖ナノゲル

蛍光修飾マクロモノマーとして、マクロモノマーの両末端にフルオレセインを修飾したものをを使用した。

細胞取り込み試験 (3D)

ナノゲルを標識している緑色の蛍光は、丸い細胞に多く観察できた。また、3D画像より、核の表面にナノゲルが存在していることがわかった。
 ナノゲルは細胞に結合したままエンドサイトーシスで取り込まれている可能性がある。

まとめ

- DNA四重鎖ゲルに上澄み溶液 (PBS) を加えることによって、ナノサイズの粒子 (DNA四重鎖ナノゲル) を放出することがわかった。
- 細胞取り込み試験の結果より、DNA四重鎖ナノゲルに内包された薬物 (TMPyP4) はHeLa細胞の核まで到達し、抗がん活性を示すことがわかった。
- 細胞取り込み試験により、ナノゲルは細胞内に取り込まれることがわかった。

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 葛谷明紀 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、イノベーション創生センター