

補助事業番号 2024M-398

補助事業名 2024年度 核酸密生層の特異物性に基づいたナノ医療材料の開発 補助事業

補助事業者名 東京理科大学教養教育研究院葛飾キャンパス教養部秋山研究室 秋山好嗣

## 1 研究の概要

核酸を機能性材料として活用する核酸工学は、環境、デバイス、医療を含む幅広い分野において注目を集めている。なかでも、核酸で高密度に被覆したナノ粒子は、優れたコロイド分散性および特異な物理化学的特性を示すことから、多様な応用展開が期待されている。特に、内核を金ナノ粒子とした核酸密生型金ナノ粒子は、核酸の高い分子認識能により標的分子に応じた選択的な凝集を誘起することで、表面プラズモン共鳴シフトによって鮮やかな色調変化が観察される。一例として、われわれは、これまでに密生層を形成している二重鎖DNAに核酸の切断を薬効メカニズムとする抗がん剤の切断活性を目視で検出する方法論を確立した。特筆すべき点として、核酸密生型ナノ粒子はドラッグデリバリーシステム(DDS)の分野でも高い関心を集めており、核酸医薬に対して酵素分解耐性を付与するとともに、遺伝子導入剤を用いることなく多様な細胞や組織へ送達できる利点をもつ。また、低い免疫原性や高い組織浸透性といった特性も報告されている。一方で、安全性の確保はもちろんのこと、細胞内動態のさらなる制御が求められている。本補助事業では、核酸密生層の特性をさらに活用し、バイオ分析技術およびナノDDS分野における応用の可能性を目指し、検討を行った。

## 2 研究の目的と背景

ナノ粒子表面に形成した核酸ブラシ構造は、分散状態の核酸とは異なる物性を発現する。われわれは、最近、核酸密生層に導入した有機分子の突出構造のわずかな違いがコロイド分散性に大きく影響する新奇な現象を見出した。本知見は、バイオ分析や診断技術への応用展開が可能な新たな制御機構とみなすことができる。そこで、本研究では、まず突出構造の違いがもたらすコロイド分散性について、分光学的手法を用いた物性評価を行い、がん関連酵素の目視診断への応用の可能性について検討した。さらに、刺激応答性修飾剤を新規に合成し、核酸医薬密生型ナノ粒子の安全性および遺伝子発現の抑制効果に関する評価も実施した。これらの取り組みにより、競輪・オートレース選手の健康維持や早期診断を支援する安全・安心なヘルスケア技術の基盤構築を目指す。

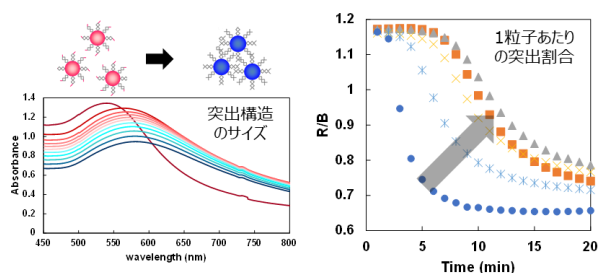
## 3 研究内容

### (1) 腫瘍マーカーの目視分析のためのコロイド分散性評価

(<https://sites.google.com/view/tus-akiyama-lab/research>)

本補助事業の研究課題では、有機分子からなる突出構造を核酸密生型金ナノ粒子の最表層部に導入し、そのコロイド分散性を紫外可視吸収スペクトルにより評価した。さまざまな分子サイズの突出構造をもつナノ粒子分散液に塩を添加したところ、突出構造のサイズに応じた吸収スペ

クトルを得た。興味深いことに、1粒子あたりの突出構造の割合によって、ナノ粒子の凝集速度を制御できることが明らかとなった。これらの知見は、糖を突出構造とする核酸密生型金ナノ粒子が、がん関連酵素の診断ツールとして利用できることを示唆している。一方で、ナノ粒子表層部に導入する糖誘導体については、これまで低い合成収率や糖修飾DNAの定量的な評価法の確立が課題であった。本研究では、糖誘導体の合成条件を最適化することで、20%であった収率を56%まで向上させることができた。さらに、糖誘導体とDNAとのコンジュゲートでは、電気泳動解析を用いることで糖誘導体がDNA末端に定量的に導入されていることを実証した。

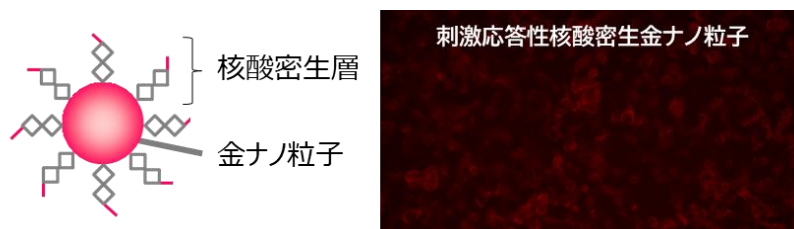


分光学的手法を用いた突出型核酸密生型金ナノ粒子のコロイド分散性評価

## (2) ナノ粒子眼科製剤への応用を可能にする刺激応答性核酸密生型ナノ粒子の開発

(<https://sites.google.com/view/tus-akiyama-lab/research>)

核酸密生型ナノ粒子は、血中での安定性や細胞内取込み能の高さから、核酸医薬のキャリアとして注目されている。本研究課題では、新規リンカーの開発により、核酸密生型ナノ構造体に刺激応答性を付与したナノ構造体の作製を試みた。まず、弱酸条件下で加水分解する官能基を有するマルチリンカーを合成した。次に、リンカーを介して得られた核酸修飾体を金ナノ粒子にブラシ状に固定化した。得られたナノ粒子に対してフローサイトメトリーによる細胞毒性試験を実施したところ、明確な毒性は認められなかった。また、外殻にsiRNAを搭載した金ナノ粒子を用いて、上皮成長因子受容体に対するサイレンシング効果を定量PCRにより評価した。酸応答機能をもたないsiRNA-AuNPと比べても有意に高い抑制効率を示した。以上より、細胞内環境下で核酸医薬を放出可能な刺激応答性核酸密生型ナノ粒子は、安全性と機能性を兼ね備えた核酸医薬向けキャリアであり、点眼薬としての実用化に向けた有望な基盤材料であると考えられる。



刺激応答性核酸密生型ナノ粒子の構造設計と生物学的評価

#### 4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

本研究で設計した核酸密生型ナノ粒子は、最表層部の微細な構造変化によるコロイド分散性の精密制御が可能であり、簡便かつ迅速な腫瘍マーカーの検出法としての応用が期待できる。また、ナノ粒子自体が再利用可能であることから、環境負荷の低減にも寄与するバイオ分析技術としての展開が見込まれる。また、DDS技術としては、眼科領域における核酸医薬の送達課題を克服し、網膜変性疾患や炎症性疾患に対する新たな治療戦略の創出が可能となる。さらに、ナノ粒子の内核構造を核酸医薬と低分子医薬で形成させることで、キャリアフリーナノDDS製剤としての応用も視野に入る。このように、高い汎用性と機能性を併せ持つ本ナノプラットフォームは、今後の個別化医療における安全かつ効果的な医療技術の実現に貢献することが期待される。

#### 5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

本事業の実施責任者は、医用高分子および核酸の合成、蛍光プローブの開発、ナノ材料の精密設計など、学際的領域での研究実績を有する。とりわけ、核酸密生層の構造変化がもたらすコロイド分散制御を活用したバイオ分性法の開発に注力してきた。本研究では、核酸密生型ナノ粒子の作製条件の最適化および再現性の確認に加え、分光学的な核酸密生型ナノ粒子のコロイド分散性評価を行った。さらに、ナノDDS分野への展開を目指し、毒性試験や遺伝子抑制効果といった生物学的評価により、刺激応答性核酸密生型ナノ材料の機能性も検証した。これらの成果は、核酸密生層の高機能化とその応用展開に向けた新たな知見の創出を提供するものであり、これまでの研究の発展的な位置づけであるとともに、学際的なナノ材料研究の深化に貢献するものである。

#### 6 本研究にかかわる知財・発表論文等

##### 【知財】

- ・ 秋山好嗣, 有村源一郎, 児玉由紀子, 高橋花音, 星野稜介, 核酸固定化金ナノ粒子、及びその製造方法, 特願2024-073950, 2024年4月30日.

##### 【査読論文】

- ・ Versatile Strategies of Nucleic Acid Synthesis for Rational Design and Biomedical Applications, Y. Akiyama, Nano Biomedicine, 2024, 16,1, 他, 現在執筆中.

##### 【学会発表】

- ・ 高橋花音, 星野稜介, 児玉由紀子, 阿部登太, 高沢青大, 上村卓矢, 島村洋輝, 十島二郎, 秋山好嗣, 有村源一郎, 酸脱離機能を搭載したDNA修飾金ナノ粒子の作製とDNAリリース挙動の特性評価, 第84回分析化学討論会, 2024年5月.
- ・ T. Fukumori, Y. Takahashi, R. Ishiyama, S. Komatsu, T. Takarada, M. Maeda, A. Kikuchi, Y. Akiyama, Colorimetric Assay of Tumor Markers Using Sugar-Protruding Double-Stranded DNA-Functionalized Gold Nanoparticles, 第73回高分子学会年次大会, 2024年6月.
- ・ 石山蓮, 福森泰地, 小松周平, 菊池明彦, 秋山好嗣, 還元環境でDNAリリースを可能にする

DNA密生型ナノ構造体の作製と自己崩壊特性, 日本分析化学会第73年会, 2024年9月.

- ・ 福森泰地, 高橋雄大, 小松周平, 宝田徹, 前田瑞夫, 菊池明彦, 秋山好嗣, がん関連酵素の基質を突出構造にもつDNA修飾金ナノ粒子の作製とコロイド分散性評価, 第73回高分子討論会, 2024年9月.
- ・ 星野稜介, 高橋花音, 児玉由紀子, 菅原加桂, 上村卓矢, 島村洋輝, 十島二郎, 秋山好嗣, 有村源一郎, 遺伝子導入試薬を必要としない酸応答性DNA金ナノ粒子の構造設計, 第34回日本MRS年次大会, 2024年12月.
- ・ Y. Akiyama, Rational Design of Poly- and Mono-DNA-Functionalized Nanostructures for Biomedical Applications, 6<sup>th</sup> International Bio-Medical Interface Symposium 2025, Taiwan, 2025 (招待講演).

## 7 補助事業に係る成果物

### (1) 補助事業により作成したもの

2024年度JKA補助事業「研究成果報告書」を2025年7月上旬に研究室HPで公開予定

### (2) (1)以外で当事業において作成したもの

特になし

## 8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名: 東京理科大学教養教育研究院

(トウキョウリカダイガク キョウヨウキョウイクケンキュウイン)

住 所: 〒125-8585

東京都葛飾区新宿6-3-1

担 当 者: 教授(キョウジュ)

担 当 部 署: 葛飾キャンパス教養部 秋山研究室

(カツシカキャンパスキョウヨウブ アキヤマケンキュウシツ)

E - m a i l: yoshitsugu.akiyama@rs.tus.ac.jp

U R L: <https://www.tus.ac.jp/ridai/doc/ji/RIJIA01Detail.php?act=&kin=ken&diu=3229>

<https://sites.google.com/view/tus-akiyama-lab/home>