

25PB-am114

Kissing-loop 相互作用を介して多足型 DNA 構造体を連結した DNA ハイドロゲルの開発

○野々村 茉緒¹, 毛利 浩太¹, 西川 元也², 佐久間 信至¹ (¹摂南大薬, ²京大院薬)

【目的】我々はこれまでに、多足型構造を有する DNA (polypodna) を相補的な配列の突出末端を介して無数に連結することで、注射投与可能な DNA ハイドロゲルが作製できることを報告した。本研究では、stem-loop 構造を付与した polypodna を新たに構築し、互いに相補的な配列の loop 構造同士間の kissing-loop 相互作用を介して polypodna を連結することで新たな DNA ハイドロゲルの作製を試みた。

【方法】Tetrapodna (足の数が4の polypodna) 末端に stem-loop 構造を付与した2種類の tetra-SL (tetra-SL1, tetra-SL2) を新たに設計した。互いの loop 構造の配列が相補的な tetra-SL1 および tetra-SL2 を混合することで、DNA ハイドロゲルを構築した。ポリアクリルアミド電気泳動 (PAGE) により tetra-SL の形成を確認した。Propidium iodide で染色した tetra-SL1 および tetra-SL2 を混合し、29G 針付注射筒を用いて注射した後の形状からゲル化を判定した。DNase I を含む PBS 中で tetra-SL をインキュベートし、残存 DNA を継時的に PAGE により定量することで分解速度を評価した。DNase I を含む PBS 中で DNA ハイドロゲルをインキュベートしたときの血清中 DNA 濃度を経時的に測定し、ゲルの崩壊速度を評価した。

【結果・考察】Tetra-SL1 および tetra-SL2 は、PAGE 上で単一のバンドで検出された。一方、tetra-SL1 と tetra-SL2 を混合した場合にはバンドは認められなかったことから、loop 構造を介して tetrapodna 同士が連結し、ゲルが形成されたと推察した。また、注射後もゲル形成が認められた。DNase I による DNA ハイドロゲルの分解は、tetra-SL 単体と比較して緩やかであった。以上より、stem-loop 構造を介して tetrapodna 同士を連結することで DNA ハイドロゲルを作製可能であり、この DNA ハイドロゲルが高い生物学的安定性を有することを見出した。