

中空球状アロフェンナノ粒子による DNA 分子の吸着特性

豊田工大院工 ○松浦洋航, 伊與田文俊, 荒川修一, 岡本正巳, 槌屋 林秀共

<緒言>

粘土鉱物によるデオキシリボ核酸(DNA)の吸着を研究することは生命の起源を解明する上で有用な知見を与える。RNA ワールド仮説によると、情報分子と酵素の2つの機能を併せ持った RNA である ribozyme から、DNA や RNA が誕生したとされている。しかしながら、これらの分子は紫外線やバクテリアなどの外的要因によって即座に破壊されてしまうため、DNA や RNA を守ることが可能な他の物質が必要である。過去の研究から中空球状で非晶質な粘土鉱物アロフェンが DNA や RNA の保護の役割について議論されている[1]。従って、アロフェンクラスター内の DNA や RNA を調査することによっても太古の生物や環境を知ることができるかもしれない。これまでの研究では2本鎖の DNA における吸着実験例は存在するが[2]、より太古の状態に近い1本鎖の DNA (ss-DNA)での吸着実験の結果は報告されていない。本研究の目的は、pH や分子サイズ、温度など様々な条件における吸着実験を実施し、アロフェンによる ss-DNA の吸着メカニズムの詳細を解明することである。

<実験>

群馬県赤城山産の天然由来のアロフェン(AK70)を吸着剤、adenosine 5'-monophosphate (5'-AMP)と仔牛の胸腺由来の single-stranded deoxyribonucleic acid (ss-DNA) (Sigma-Aldrich: D8899, $M_w=1.635 \times 10^7$ Da, 5.0×10^4 base)を吸着質とした。アロフェンと所定濃度の吸着質溶液、NaCl 溶液を混合し、室温で60時間振とうさせ、遠心分離処理をし、上澄み液の全有機炭素(TOC)、全窒素(TN)濃度を燃焼法(800 °C)にて測定し、吸着量を評価した。また、pH 条件・温度を変化させ、吸着特性に及ぼす影響を調べた。さらに、透過型電子顕微鏡(TEM)を用いてアロフェンの ss-DNA 吸着後の形態観察を行った。

<結果・考察>

TOC/TNから算出した平衡濃度 $[A]_e$ に対する吸着量 Q を用いて Freundlich の吸着等温式 $Q = K_f [A]_e^{1/N}$ から K_f と N を算出し、この値を Table に纏めた。吸着能を表す K_f は 5'-AMP の方が ss-DNA より非常に大きいことが分かる。これは、ss-DNA の分子鎖の立体障害とリン酸基の反発によるものと示唆される。また、所定の pH における ss-DNA の吸着特性を評価した。pH の増加に伴い ss-DNA の吸着能は低下していることが分かる。これは pH の変化におけるアロフェンの表面電荷特性が原因であると考えられる[2]。さらに、吸着特性の温度依存性から算出した活性化エネルギーは、Table に示すように pH の増加に伴って増加する傾向があった。これは上述の各 pH における吸着能を評価した結果と対応した。また、TEM を用いて形態観察を行った結果、Fig に示すように多くの吸着形態が確認された。

<参考文献>

- 1) Y. Huang et al., 22nd Australian Clay Minerals Society Conference (2012)
- 2) Saeki K, Sakai M, Wada SI, Appl. Clay Sci., 50, 493, (2010)

Table. Freundlich isotherm parameters for 5'-AMP and ss-DNA

Adsorbents	Adsorbates	pH	K_f	N	R^2	E_a
		-	mol/g mol ^{1-1/N}	-	-	kJ/mol
AK70	5'-AMP	-	0.157	1.23	0.954	-
	ss-DNA	-	2.83×10^{-6}	2.39	0.960	-
		3	4.53×10^{-3}	1.38	0.993	24.3
		7	1.59×10^{-5}	2.04	0.984	32.0
9	3.08×10^{-7}	2.97	0.966	59.1		

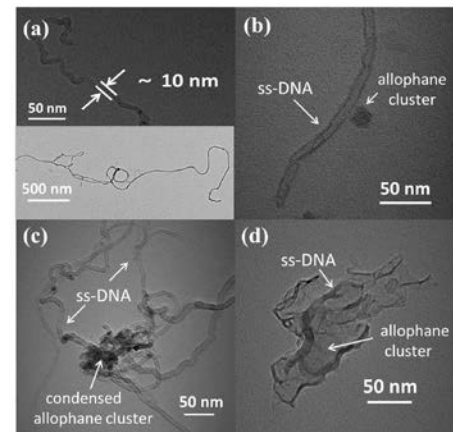


Fig. The morphological features of allophane and ss-DNA observed by TEM.

DNA adsorption characteristics of hollow spherical allophane nano-particles

Yoko Matsuura¹, Fumitoshi Iyoda¹, Syuichi Arakawa¹, Masami Okamoto¹, Hidetomo Hayashi²

(¹Graduate School of Engineering, Toyota Technological Institute, 2-12-1, Hisakata, Tempaku, Nagoya, Aichi 468-8511, Japan ²Tsuchiya Co., Ltd., 22-4, Higashinamikita, Yamamachi, Chiryu, 472-0006, Japan)

¹Tel: 052-809-1863, Fax: 052-809-1864, E-mail:sd12441@toyota-ti.ac.jp

Key Word: allophanes / nanoparticles / DNA / adsorption

Abstract: The propensity of the natural allophane to adsorb single-stranded deoxyribonucleic acid (ss-DNA) and adenosine-5'-monophosphate (5'-AMP) was assessed by batch experiments with varying pH conditions. The adsorption data were fitted into the Freundlich equation and the adsorption parameters were assessed. The adsorption capacity of the ss-DNA was small as compared to 5'-AMP and showed an increased adsorption with lower pH values due to the protonation of Al-OH groups on the allophane surface. The temperature dependence of the adsorption behavior of ss-DNA for various pH was investigated and the activation energy (E_a) was discussed. The E_a values showed an increase with the increase in the pH values. After adsorption of ss-DNA on the natural allophane, the morphological features of allophane and ss-DNA were observed by transmission electron microscopy (TEM).