

酸化還元電位検出型金電極 FET を用いた DNA 伸長反応検出に対する基礎検討

A Study for DNA Polymerization Detection Using FET Based Redox Potential Sensor with Gold Electrode

名大工¹ ○石原 大貴¹, 中里 和郎¹

Nagoya Univ.¹ ○Hiroki Ishihara¹, Kazuo Nakazato¹

E-mail: h_isihar@echo.nuee.nagoya-u.ac.jp

ヒトゲノムの全塩基配列の解析完了により、多様性の解析が遺伝子分析の次のターゲットとなっている。人間はほとんど同じ DNA 塩基配列を持っているが、わずかに異なっている。この多様性が、重大な疾病や、投薬効果の差異につながる。ゆえに、DNA の塩基配列の解析は、健康や医療の面から重要となっている。今までの DNA 検出の主流は光学測定であったが、操作の簡易性、小型化、検出コスト削減などの観点から、現在では、FET を用いた DNA 検出が注目されている。FET を用いた DNA 検出で盛んに研究されている方法として直接電荷検出法と、pH センサを用いた方法がある。しかし、直接電荷検出法では、溶液の塩濃度に依存するデバイ長により検出範囲が制限されてしまい、pH センサを用いた方法では、pH 緩衝能により感度が低下するなど、バッファー条件の影響を強く受けてしまう[2,3]。今回私たちが提案する新しい DNA 検出法は、DNA 伸長反応により生成するピロリン酸の酵素触媒酸化還元反応を電位として検出する方法である。この方法では、溶液の塩濃度や pH 緩衝能などの影響を受けないため、高精度に DNA の伸長反応を検出できる可能性を有する。

本研究では次のような実験を行った。DNA が伸長反応した際に発生するピロリン酸(PPi)を Fig.1 に示す酸化還元反応[4]によって、酸化還元物質の濃度比に変換し、電位測定をした。Fig.2 では、各 PPi 濃度に対する電位変化を示している。PPi 濃度の対数に対して、50 μ M から 1mM までの範囲で線形関係を得た(-12.3 mV/decade, $r^2 = 0.999$)。しかし、この結果は、室温でのネルンストの式の傾きである-59.2 mV/decade に一致しなかった。次にこの結果を、平衡定数とネルンストの式を用いて理論的な解析を行った。この解析により、この反応系での理想的な感度は-14.8 mV/decade であることがわかり、この解析結果は実験結果とよく一致していた。

[1] J.M. Rothberg, et al., Nature 475 (2011) 348-352.

[2] T. Sakata and Y. Miyahara, Biosensors and Bioelectronics 22 (2007) 1311-1316.

[3] S. Caras and J. Janata, Anal. Chem. 52 (1980) 1935-1937.

[4] H. Tanaka, et al., Jpn. J. Appl. Phys. 51 (2012) 04DL02.

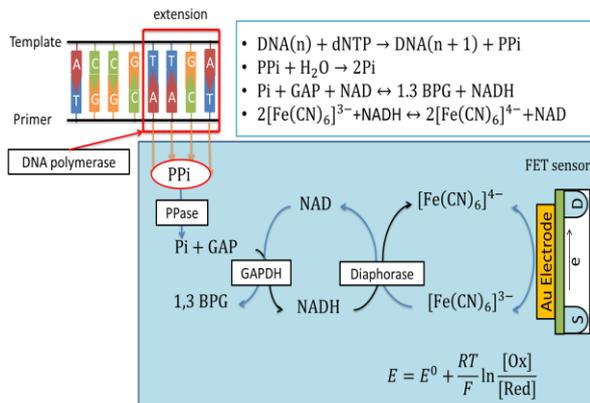


Fig. 1 Enzyme-catalyzed reaction system of DNA polymerization

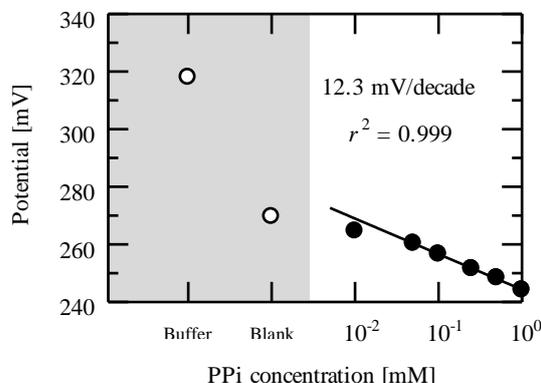


Fig. 2 PPi concentration versus potential