

紫外光励起を用いた単一分子 DNA の Si ナノポア通過過程の高分解能化

High resolution measurement of single DNA translocation through Si nanopores

with ultraviolet excitation

慶大理工, °伊藤 晋太郎, 山崎 洋人, 塚原 睦, 江刺家 恵子, 斎木 敏治

Keio Univ. °Shintaro Ito, Hirohito Yamazaki, Mutsumi Tsukahara,

Keiko Esashika, Toshiharu Saiki

E-mail: shintaro.ito@saiki.elec.keio.ac.jp

個別化医療の実現に向けて、高速、精確、かつ安価な DNA 塩基配列解読技術(シーケンサ)の確立が求められている。次世代シーケンサとして、ナノポアを通過する単一 DNA 分子の塩基配列を順次解読する手法が有望視されている。中でもイオン電流を用いたシーケンス法は、非修飾かつ高空間分解能であるため高い期待が寄せられている。しかしながら、この技術の実用化には、測定精度やスループットが十分でないなどの課題が残されている。これらの問題を解決する手段として、多数のナノポアを用いた光学的な並列計測法が提案されている[1]。われわれは、光学検出型シーケンサの実現を目指し、Si ナノポアと紫外光励起によって発生する急峻な電場勾配を利用した、数 nm の高空間分解能を有する単一分子計測技術の開発を行っている。本発表では、ナノポアを用いた計測技術の中で、最も大きな課題である、DNA のナノポア通過速度の制御に関して、電気泳動に用いる塩化カリウム溶媒の濃度変化によって、通過過程にどのような変化が生じるかを観察した結果を報告する。

ナノポアを用いた光学計測法の概念図を図 1 に示す。Si 薄膜は厚さ 15nm, ナノポア直径 10~20nm、励起光として紫外半導体レーザー($\lambda=375\text{nm}$)を用いた。DNA は蛍光色素 DAPI(励起 $\lambda=360\text{nm}$, 発光 $\lambda=460\text{nm}$)で染色し、ナノポアメンブレンを挟んで電圧印加し電気泳動することで、ナノポア通過直後の蛍光発光を検出することができる。図 2 は、溶媒濃度を 0.5M, 1.0M, 2.0M へと変化させた時の単一 DNA 分子のナノポア通過時間をヒストグラム化したものである。濃度が高くなるにつれて、通過時間が延びることが確認された。これは、電気泳動される DNA の挙動は自身の電荷が強く関係し、またそれは溶媒中のカチオン濃度に影響されていると考えられる(図 3)。

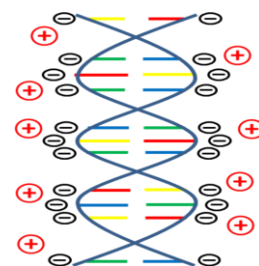
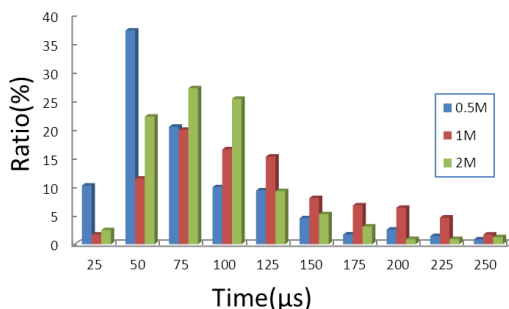
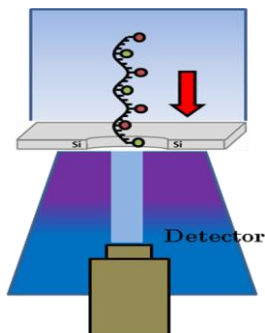


図 1 光学的ナノポアシーケンサ

図 2 濃度変化による通過時間変化

図 3 DNA の電荷変化

[1]B. McNally, A. Singer, Z. Yu, Y. Sun, Z. Weng and A. Meller, Nano. Lett. 10, 2237 (2010).