20a-A3-10

DNA 探針を用いたトンネル電流計測に基づく遺伝子変異の単分子検出

Single-Molecule Detection of Genetic Mutation by Tunneling Current Monitoring Using DNA tips

阪府大院工　°西野 智昭，ブイ タン フク，椎木 弘，長岡 勉

Osaka Prefecture Univ., °Tomoaki Nishino, Phuc Tan Bui, Hiroshi Shiigi, Tsutomu Nagaoka

E-mail: nishino@chem.osakafu-u.ac.jp

【緒言】遺伝子検査は，遺伝疾患だけでなく癌や感染症の早期発見を可能とすると期待されており，簡便，迅速な遺伝子検査技術の開発が社会的に強く望まれている．当研究室では，走査型トンネル顕微鏡（STM）の分子探針を用いた単分子－単分子間電子移動の計測法を開発した［1］．さらに，STM 探針にプローブ DNA を固定した DNA 探針を開発し，上記計測法に基づき，DNA 探針とターゲット DNA とのハイブリダイゼーションにより形成された二本鎖 DNA を介した電子輸送が計測できることを見出した［2］．本研究では，これらをさらに展開し，DNA 探針を用いたトンネル電流計測によって簡便，迅速に DNA 単分子のミスマッチやメチル化塩基を検出できる手法を開発することを目的とした（Fig. 1）．

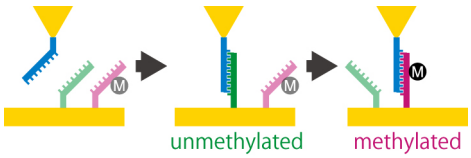

Fig. 1. DNA single-molecule detection by DNA tip.

【実験】1%過塩素酸を含む 3 M NaCl 水溶液中，交流 10 V にて電解研磨を行い Au ワイヤを先鋭化し，下地探針とした．PDMS によってごく先端のみを絶縁した後，これを 3'末端にメルカプトプロピル基を導入した 8 mer の一本鎖 DNA (ssDNA)の溶液に一晩浸漬することによって DNA 探針を得た．同様の 8 mer ターゲット ssDNA を含む溶液に Au(111)基板を 30 秒浸漬し，試料とした．全てのトンネル電流計測は 0.1 M 過塩素酸ナトリウム水溶液中，白金線を対極，及び準参照電極として用い，基板を自然電位に保持して行った．

【結果と考察】DNA 探針を，ターゲット DNA を吸着させた Au(111)基板のごく近傍まで近接させた後，STM のフィードバック回路を切断してトンネル電流を計測した．得られた電流－時間（*I*–*t*）プロットには，ベース電流に加え一時的な電流上昇が観測された（Fig. 2）．この電流増加値をもとに計算したコンダクタンスは DNA 探針とターゲット DNA から形成される二本鎖 DNA(dsDNA)のコンダクタンスと良く一致した．従って，測定中に DNA 探針がターゲット DNA と自発的にハイブリダイズすることによって電流が増加したものと結論づけた（Fig. 1）．この dsDNA の融解温度は室温付近であるため，Fig. 2 のような，ランダムテレグラフノイズに似た *I*–*t* プロットが得られたものと考えられる．また，ターゲット DNA にミスマッチ，またはメチル化塩基が含まれている際には，電流増加値が大きく減少することを見出した．相補的な DNA とメチル化塩基を含む DNA を混合した試料ではそれぞれに対応する 2 種の電流増加値が観測され，各々を識別することが可能だった．以上の結果は DNA 探針を用いた簡便な電流計測によって，DNA 特定配列の検出のみならず，DNA の変異や後天的修飾を単分子レベルにて検出できることを示唆している．

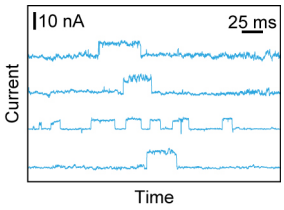

Fig. 2. *I*–*t* traces measured with DNA tip and target ssDNA on Au(111).

【参考文献】

[1] T. Nishino, N. Hayashi, P. T. Bui, *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, **135**, 4592; P. T. Bui, T. Nishino, Y. Yamamoto, H. Shiigi, *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, **135**, 5238. [2] T. Nishino, P. T. Bui, *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 3439.

© 2014 年　応用物理学会