19p-E17-7

紫外光源を用いた時間分解 DNA ナノポア通過観察

Time-resolved measurement of DNA translocation events by ultraviolet light

慶大理工，　○山崎 洋人，木村 真二，塚原 睦，伊藤 晋太郎，江刺家 恵子，斎木 敏治

Keio Univ.，○ Hirohito Yamazaki, Shinji Kimura, Mutsumi Tsukahara, Shintaro Ito,

Keiko Esashika, Toshiharu Saiki

E-mail: yamazaki@saiki.elec.keio.ac.jp

ナノポアシーケンサは，DNA を直径数 nm の孔に通し，一塩基ずつ順番に読み取る手法である。これにより，従来の方法で必要不可欠であった PCR 法が不要となり，一度に長い DNA を読み取ることができるため，安価でかつ高速なゲノム情報解析技術の実現が期待されている。本研究では，紫外光とシリコンナノポアを組み合わせることで，先行研究と比べて，前処理の少ない，簡便な遺伝子情報解析技術の開発を検討している。これまでに，FDTD 法を用いた理論計算から，本研究法は，ナノポア表面からわずか 2 nm で立ち上がる大きさ 40nm の光スポットを励起光源とすることを報告した[1]。この分解能は，おおよそ 120 塩基に相当し，本研究では，この分解能を用いて，遺伝子型判定法などの応用を目指す。本研究法では，分光検出することで，イオン電流値検出法では行うことのできなかった，複数の特異配列の識別が一度に可能となる。本研究法では，ナノポアを通過した DNA が折れ曲がることなくまっすぐと，光スポットを通ることが重要となる。本発表では，DNA のナノポア通過後のダイナミクスを明らかにするために，波形検出を行った成果について述べる。

本測定は，孔径 7 nm，膜厚 10 nm のポーラスシリコンを用いた。励起光は，波長 375nm の紫外レーザーを用いた。また，サンプルは，DNA 10 kbp を蛍光色素 DAPI で染色したものを用いた。Fig. 1 に示すように，印加電圧 100 mV の条件では，300 μs で急峻に立ち上がり，1 ms でなだらかに立ち下がる波形を検出した。この波形の立ち上がり平均時間 335 μs は，先行研究で得られた値と一致した[2] (Fig. 2)。更に印加電圧を高くするにつれて，この立ち上がり平均時間が減少する傾向がみられた(Fig. 3)。これは，先行研究で示唆されているように，DNA ナノポア通過時間の印加電圧依存性が観察されたといえる。これらの結果から，立ち上がり波形が DNA のナノポア通過過程を表すことがわかった。また，立ち下り波形は，先行研究では観察することのできなかった，DNA がナノポアを通過した後の過程であることがわかった。以上より，本研究法は，DNA がナノポアを通過する過程と通過した後の過程を観察できる新たな観察法であることが明らかとなった。

[1] 木村真二，山崎洋人，塚原睦，江刺家恵子，斎木敏治，第 73 回応用物理学会学術講演会 (2012)
[2] Li, J., M. Gershow, D. Stein, E. Brandin, and J.A. Golovchenko,　Nat. Mater., **2**, 611 (2003)

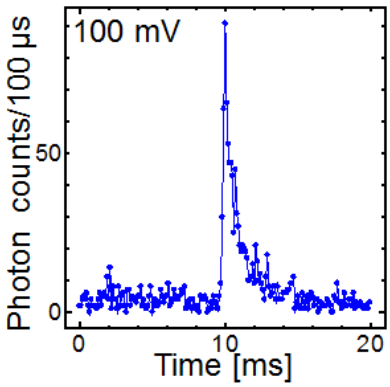

Fig. 1 Experimental result of DNA translocation events

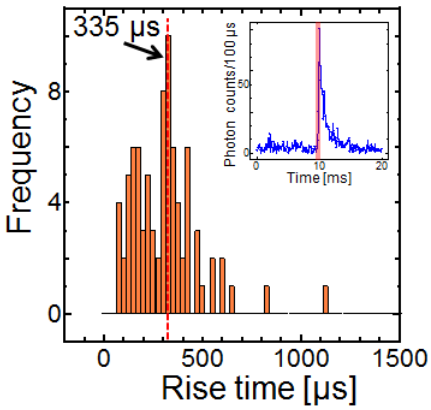

Fig. 2 Histogram of rise time under 100 mV

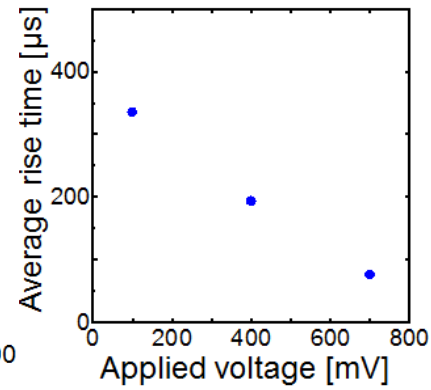

Fig. 3 Voltage dependence of average rise time

© 2014 年　応用物理学会