

## トンネル電流計測に基づく人工核酸塩基識別法の開発

### Development of Artificial Nucleotide Identification Method by Tunnel-Current

阪大産研/東大工 ○大城敬人, 横田一道, 筒井真楠, 谷口正輝

東大工 古畑孝史, 植木亮介, 山東信介

Osaka University ISIR, Takahito Ohshiro, Kazumichi Yokota, Makusu Tsutsui, Masateru Taniguchi

The University of Tokyo, Takafumi Furuhashi, Ryosuke Ueki, Shinsuke Sando

E-mail: toshiro@sanken.osaka-u.ac.jp

#### 1. 緒言

高速・高精度かつ低コストに個人の遺伝情報を読み取ることのできる次世代DNAシーケンサの開発は、近年世界中でしのぎを削っている。我々は、単分子DNA鎖を微小ギャップ電極によって電気計測するシーケンシングする方法論を提案しており、これまでにトンネル電流を指標として核酸塩基種をコンダクタンスの値の違いから識別可能であることを示している[1]。こうした分子のコンダクタンスを直接観察するという特徴により、後天的化学修飾（例えば、シトシンのメチル化）についても識別可能であることが示唆されている[2]。

本研究では、単分子シーケンシングに向けたプローブとなる新規核酸塩基分子をデザイン合成し、その識別能について検討を行った。コンダクタンスの違いを、対象配列部位において統計的に有意となるためには多くのリード数が必要となる。そこで、コンダクタンス値が大きく異なる化学修飾した核酸塩基を配列中に導入することで、識別能の向上が期待できる。

#### 2. デバイス作製および測定条件

計測デバイスについては、単分子識別能をもつギャップ電極を用いることで、単分子計測法を確立したものを採用している。計測に用いるnano-MCBIJは、シリコン基板表面にポリイミド膜をスパインコートし、その上に電子線描画法およびRFスパッタ法を用いて、金ナノ接合を形成する。その後、ポリイミドのエッチングを行い、金ナノ接合を作製する。この金ナノ接合を自己破断後、ピエゾ素子を用いて電極間距離をトンネル電流測定可能な距離を0.6 - 0.7nmの範囲で固定して、電気計測を行った。

試料となるウラシルの誘導体は、合成・精製し、同定をおこなった。合成した試料を、有機溶媒（トリクロロベンゼン）に1-10 $\mu$ Mの濃度となるように溶解し、室温・大気圧下で高速電流計測を行った。

#### 3. 結果・考察

ウラシルのピリミジン環に、チオフェンやテトラチアフルバレンを導入にした分子およびウラシルの各溶液について、ナノギャップ電極間を通る時、分子を介したトンネル電流を計測した。この分子由来の電気的なシグナルについて、ヒストグラムを作成し、シグナルのピークが、ウラシル、チオフェン(TU)、テトラチアフルバレン(TTF)誘導体の順に大きくなることが確認された。これら分子のHOMOのエネルギーレベルは、各分子の計算ではウラシルの-6.45eVと比較して、-5.55eV(TU)、-4.98eV(TTF)となり、この金の真空中での仕事関数(-5.3eV)に近い順に大きくなっていることがわかった。この傾向について、DNAやRNAの自然の核酸塩基のコンダクタンス値とHOMOレベルとの関係と類似している。

#### 3. 結言

今回、人工核酸塩基を導入することでコンダクタンスの違いを用いた識別能の向上の可能性について示すことができた。今後、こうしたプローブ分子を導入したシーケンシングについて評価を行っていく予定である。

関連論文 [1] *Sci.Rep.*, 2012;2, 501. [2] *J Am Chem Soc.* 2011 Jun 15;133(23):9124-8.