

核酸塩基プローブをもちいた核酸塩基鎖識別法の開発 Development of Single-Molecule Electrical Identification Method with Artificial Nucleotide Probe

阪大産研¹/東大院工² ○大城敬人¹, 古畑隆史², 小本祐貴¹, 植木亮介², 横田一道¹,
筒井真楠¹, 山東信介², 谷口正輝¹

ISIR-SANKEN, Osaka Univ. ¹ Takahito Ohshiro¹, Yuuki Komoto¹, Kazumichi Yokota¹, Makusu
Tsutsui¹, Masateru Taniguchi¹

The University of Tokyo², Takafumi Furuhashi², Ryosuke Ueki², Shinsuke Sando²

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。本研究室では、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[1-5]。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。

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. 計測・実験条件

計測に用いる nano-MCBIJ により作製した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に制御し、電気計測を行った。試料となる修飾塩基として、ウラシル骨格に、電子供与性基を修飾した核酸塩基、あるいは、アデニン骨格を電子豊富な類似構造に変えた非天然核酸塩基について合成を行った。この核酸塩基を含む水溶液 0.2-5.0 μM の濃度を用い、室温・大気圧下で計測を行った。

3. 結果・考察

約 1nm に制御した電極ギャップをもつナノ電極を用いて、電極付近を通り過ぎる 1 分子に流れるトンネル電流を計測した。このとき、核酸塩基を含む溶液（試料）と溶媒のみ（ブランク）を同一デバイス、同一条件で測定を行った。

モノマーによる計測の結果、この分子由来の電氣的なシグナルについて、ヒストグラムを作成し、シグナルの分布がシフトし、合成核酸塩基の HOMO レベルが、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。

この傾向は、これまでの DNA や RNA の自然の核酸塩基のコンダクタンス値と HOMO レベルとの傾向と同様であった。

次に、アデニンの識別性能を上げるため、アデニンを非天然の類似構造へと置換したオリゴマー塩基鎖をもちいたトンネル電流計測をナノギャップ電極デバイスによって行った。その結果、アデニンと比べ大きなコンダクタンスが観察され、HOMO の制御が識別能の向上に有効であることが示唆された。

関連論文 [1] M. Di Ventra and M. Taniguchi, Nat. Nanotechnol., 11 (2016) 117. [2] M. Tsutsui, M. Taniguchi, K. Yokota, T. Kawai, Nat. Nanotechnol., 5 (2010) 286. [3] T. Ohshiro, K. Matsubara, M. Tsutsui, M. Furuhashi, M. Taniguchi, T. Kawai, Sci. Rep., 2 (2012) 00501. [4] J Am Chem Soc. 2011 133, (2011) 9124. [5] T. Ohshiro, M. Tsutsui, K. Yokota, M. Furuhashi, M. Taniguchi, T. Kawai, Nat. Nanotechnol., 9 (2014) 835.