緑レーザー加熱ナノポアを用いたラベルフリー分子融解温度計測

Label-Free Single-Molecule Thermoscopy Using a Green Laser-Heated Nanopore

ノースイースタン大¹, ノースカロライナ大², 北京大³, ○(P)山崎洋人¹, 胡蕊^{1,3}, Robert Y. Henley¹,

Justin Halman², Kirill A. Afonin², 俞大鵬³, 赵清³, Meni Wanunu¹

Northeastern Univ.¹, Univ. of North Carolina², Peking Univ.³, °Hirohito Yamazaki¹, Rui Hu^{1,3},

Robert Y. Henley¹, Justin Halman², Kirill A. Afonin², Dapeng Yu³, Qing Zhao³, Meni Wanunu¹

E-mail: h.yamazaki@neu.edu

ナノポア計測とは、ナノサイズの孔を用いたラベルフリー分子計測技術のことである。本発表では、可視光レーザー照射によるナノポア加熱を用いた生体分子の融解温度測定技術について述べる。Figure 1に本測定技術の概要を示す。Si基板に支持された膜厚50~30 nmのSiNに透過型電子顕微鏡(TEM)を用いて、孔径2~3nmのナノポアを作製する。これを電解質溶媒に満たされたcis-とtrans-チャンバー間に設置し、電圧を印加する。すると、電気泳動により測定対象の生体分子はナノポアを通過する。生体分子ナノポア通過は、イオン電流値の減少として測定され、減少量・時間から生体分子の解析ができる。この基本的なナノポア測定機構に加え、波長532 nmのレーザーをナノポアに照射すると、ナノポア加熱に伴う溶媒粘性率の減少によりイオン電流値が増加する。本研究では、レーザー加熱時のイオン電流値変化に関する理論式を構築することで、ナノポア温度をin-situで計測を実現した。このin-situナノポア温度計測技術を用いることで融解温度測定が可能となる。Figure 2にtRNAの融解温度測定結果を示す。融解による構造変化に伴いtRNAがナノポアを通過し、イオン電流値増加として、測定され、このときの電流値増加率から融解温度が計測できる。本測定技術は電圧依存性を計測することで、Figure 2cに示すようにバルク溶媒中のtRNA融解温度と概ね一致する値を得ることに成功した。

Figure 1 本測定技術の概要

Figure 2 tRNA 融解温度測定結果