

単分子計測によるアルデヒド化修飾塩基の検出

Detection of acetaldehyde-derived DNA nucleic-acidic base

阪大産研¹ ○小本 祐貴¹, 大城 敬人¹, 谷口 正輝¹

Ousaka Univ. ISIR¹, °Yuki Komoto¹, Takahito Ohshiro¹, Masateru Taniguchi¹

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

DNA は 4 種の塩基から構成されることがよく知られているが、生体中では 4 種だけでなく化学反応による修飾塩基が DNA 中に存在することがわかってきている。注目される修飾塩基の一つが図 1 に示す N^2 -エチル-2'-デオキシグアノシン (N^2 -Et-dG) である。 N^2 -Et-dG はデオキシグアノシン(dG)に、エタノールの代謝物であるアセトアルデヒドが付加し、脱水、還元を経ることにより生じ、食道癌のマーカーとしての利用が期待されている。しかし、現在は、 N^2 -Et-dG を検出するために複雑な前処理を必要としており、簡便な検出法が望まれている。我々はこれまでに、単分子計測により、DNA シーケンシングを行う手法を報告してきた[1]。単分子計測では、金属ナノギャップ間を通過する単一の分子の伝導度を直接計測するために、前処理の必要なく修飾塩基を直接検出することができると期待されている。そこで、本研究では、 N^2 -Et-dG の単分子計測を行い、 N^2 -Et-dG と dG を単分子レベルで識別する N^2 -Et-dG の検出法を開発することを目的とした。

実験は Mechanically Controllable Break Junction (MCBJ) 法を用い、 N^2 -Et-dG、dG 溶液をそれぞれ測定した。単分子計測の結果、いずれの溶液でもパルス状の電流シグナルが得られた。得られたシグナルの電流ヒストグラムを図 2 に示す。 N^2 -Et-dG は dG よりも、高い伝導度を示すシグナルが多く、平均電流値は dG の 1.2 倍であり、 N^2 -Et-dG と dG が MCBJ 計測において差異を示すことを確認した。 N^2 -Et-dG、dG のシグナルを、それぞれ機械学習を用いて学習、分類したところ、単一シグナルを精度 0.63 で識別することに成功した。第一原理計算により、それぞれの電子状態を求めたところ、 N^2 -Et-dG は dG よりも高い HOMO レベルを有することが明らかになり、これにより N^2 -Et-dG が dG よりも高い伝導度を示すことが明らかになった。

本研究では、核酸塩基の修飾塩基である N^2 -Et-dG を、単分子計測を用いて検出し、dG と識別することに成功し、 N^2 -Et-dG の簡便な検出手法としての単分子計測の利用可能性を示した。

[1] T. Ohshiro *et al.*, *Sci. Rep.*,**9**,3886 (2019)

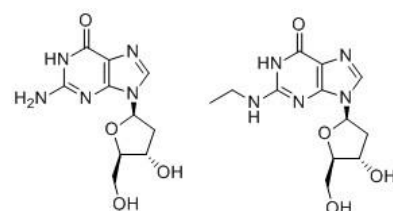


Fig1 Molecular structures of (left) dG and (right) N^2 -Et-dG.

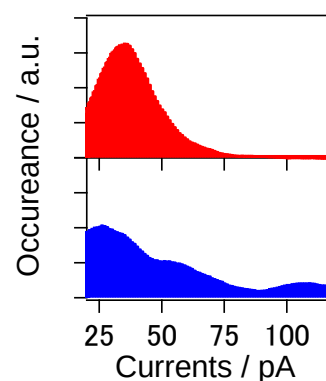


Fig.2 Current histograms of (top) dG and (bottom) N^2 -Et-dG.