Nicked DNA が引き起こすナノポアとの相互作用

Interaction with Nanopore caused by Nicked DNA

青学大院　○(M1)ロイド 賢人，(M2)港 聖也，(M1)久保田 智也，三井敏之

Aogaku Univ., ○Kento Lloyd, Seiya Minato, Tomoya Kubota, Toshiyuki Mitsui

E-mail: mitsui@phys.aoyama.ac.jp

1. 背景

ナノポアは分子がポアを通過する際のイオン電流の変化により、sub 分子レベルの感度があり、究極のゴールはシークエンシングである。しかし、lambda DNA（16.5 μm）のような長い DNA はナノポア通過時に詰まる[1]。その要因は未解明で、DNA の幾何学的影響か、溶媒イオンによる電気浸透流の影響かが問われる[2]。そこで、我々は DNA の長さと詰まりの頻度と nick(二本鎖の一方を酵素で切る)による詰まりの頻度の変化を調べた。興味深いことに、flexible になったはずの nick ありの DNA のほうが詰まる傾向が現れた。

2. 実験方法

直径 100 nm のナノポアの作成には Si_3N_4 (200 nm)薄膜上に Focused Ion Beam を用いた。DNA は、10 kbp, 20 kbp, lambda DNA(48.5 kbp), T4 DNA(166 kbp)の 4 種類である。また、単位長さあたりの nick の密度もパラメータとするために、3 種類の制限酵素を用いた。詰まりは DNA の蛍光分子（YOYO-1）による可視化によって観測した。

3. 結果

詰まりの頻度は nick なし DNA は長さに依存し、nick ありでは、48.5 kbp 以下の場合、同程度で頻度がなしの 3 倍ほどになった (Fig.1)。興味深い現象として nick なし 166 kbp DNA はポア通過をせずに手前に逆戻る挙動が観られ、nick ありでは、その頻度が 1.3 倍に上がった。またこの挙動は 48.5 kbp の DNA でも観られた(Fig.2)。本発表では酵素種の影響と、有限要素法による電気浸透流と詰まりの関係を議論する。

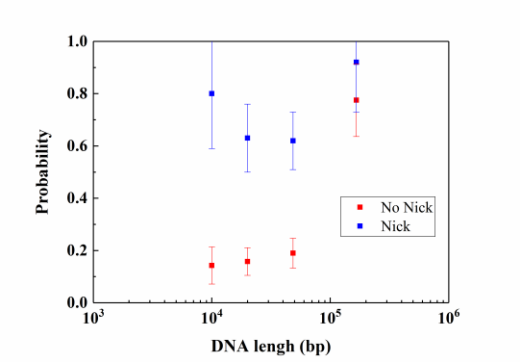


Fig.1 Probability of DNA clogging

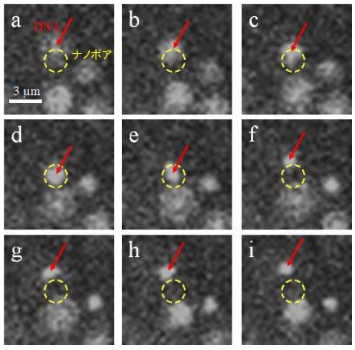


Fig. 2 Lambda DNA clogging and returning at nanopore.

[1] G. Ando, C. Hyun, J. Li, T. Mitsui., *ACS Nano* **6**, 10090-10097 (2012).
[2] N. Laohakunakom, S. Ghosal, O. Otto, K. Misiunas, U.F. Keyser, *Nano lett*. **13**, 2798-2802 (2013).

© 2019年 応用物理学会