

トンネル電流計測 1 分子検出法を用いた 化学修飾を含む核酸塩基鎖識別法の開発 Epigenetic Discrimination of Nucleotide For Single-Molecule Tunnel-Current Electrical Identification

阪大産研¹ 阪大医¹ ○大城敬人¹, 小本祐貴¹, 浅井歩², 今野雅允², 石井秀始², 谷口正輝¹
ISIR-SANKEN, Osaka Univ.¹, Medical School, Osaka Univ.²: Takahito Ohshiro¹, Yuki Komoto¹,
Ayumu Asai², Masamitsu Konno², Hideshi Ishii², Masateru Taniguchi¹

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

1. 緒言

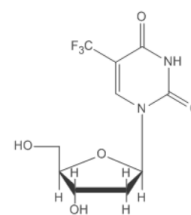
高速・高精度かつ低コストに個人の遺伝情報を読み取ることのできる次世代 DNA シーケンサの開発は、近年世界中でしのぎを削っている。我々は、単分子 DNA 鎖を微小ギャップ電極によって電気計測するシーケンシングする方法論を提案している[1]。こうした分子のコンダクタンスを直接観察するという特徴により、後天的化学修飾についても識別可能であることが示唆されている[2]。こうした核酸塩基の化学修飾をターゲットとしたゲノムシーケンスは単分子シーケンシングの大きな長所となることが期待されている。

本研究では、開発してきた単分子検出法を用いて、化学修飾塩基を含む核酸塩基鎖の識別に対して行った。化学修飾核酸塩基（ここでは Trifluorothymidine: FTD: 右図）は、通常の核酸塩基とは異なるコンダクタンスの波形を持っている。その化学修飾核酸塩基を 1 塩基ごとの波形から、統計的な挙動の違いを抽出し、次に、化学修飾塩基を含む核酸塩基鎖を測定し、得られた波形データを参照配列と比較することで、各修飾塩基をもつ対象配列部位がどのように変化し、識別可能であるかについて評価を行った。

2. 計測・実験条件

計測の用いる nano-MCBI は、薄型シリコン基板上に金線を描画し、酸化シリコンで被覆し、ギャップ付近にナノ流路を配置したものを用いる。金線を機械的に破断し、ピエゾ素子もちいて電極間距離を制御する。トンネル電流のバググランド電流を基準として、0.02 nm 刻みで 0.64-0.56nm の範囲で計測を行った。この範囲で、核酸塩基測定に最適な

距離に設定し、電気計測を行った。試料となる核酸塩基および化学修飾塩基 (FTD: 右図) の鎖は購入したものを用いた。この核酸塩基およびこれを含む塩基鎖を含む水溶液 0.2-5.0 μM の濃度を用いた。



3. 結果・考察

ナノ電極を用いて、電極付近を通り過ぎる 1 分子に流れる電流-時間の波形シグナルを計測した。その結果、FTD の波形データの統計処理をすると、コンダクタンス値が G を 1 とすると 0.21 の相対コンダクタンス値となることが分かった。これは最近接の通常核酸塩基が T で 0.45 と比較して、小さい値となることが分かった。これは、F のもつ電気陰性度の大きさがピリミジン環の電子状態に影響を与えたと推察される。この 1 塩基の波形結果をもとに、FTD を含む核酸塩基鎖 (5'-TCA CAA GFF AGA GAC AAG CCT-3') と含まない塩基鎖 (5'-TCA CAA GTT AGA GAC AAG CCT-3') を比較すると、対象配列部のコンダクタンス値をもとに識別することができる可能性ことを示唆している。

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.