

ハイブリダイゼーション連鎖反応を利用した核酸検出光バイオセンサーの開発

(兵庫県立大工) ○田中 亜季・中村 光伸・高田 忠雄

DNA-based photoelectrochemical biosensors utilizing hybridization chain reaction (*Graduate School of Engineering, University of Hyogo*) ○Aki Tanaka, Mitsunobu Nakamura, Tadao Takada

Rapid detection methods for trace amounts of nucleic acids are becoming important for applications in medical fields such as infectious diseases, cancer diagnosis, and genetic analysis. In this study, we focused on the hybridization chain reaction (HCR), in which the double-strand formation proceeds continuously at isothermal temperatures, to develop a novel nucleic acid sensor that combines HCR and photocurrent methods. HCR is a signal amplification method that does not require temperature change and enzymatic reaction, in which hairpin DNA (H1) with a complementary sequence to the initiator DNA and hairpin DNA (H2) with a complementary sequence to H1 is chain-reacted to lead to the extension of double-stranded DNA at isothermal conditions. Initiator DNA was fixed by Capture DNA immobilized on the electrode surface, and HCR was performed by adding H1 and H2. The electrochemical response of Ru complexes bound to double-stranded DNA on the electrode was used to evaluate HCR on the electrode surface, and it was found that the electrochemical signal of Ru complexes increased with the progress of HCR. The detection of target DNA and RNA was investigated by detecting the photocurrent generation of the DNA-binding photoredox molecules.

Keywords : DNA; Hybridization Chain Reaction; Electrochemistry; photocurrent; biosensor

感染症やがん診断、遺伝子解析等の医療分野への応用を目的として、微量核酸の迅速検出技術の有用性が高まっている。本研究では、PCR フリーな核酸検出法を目的とし、等温で二本鎖形成が連続的に進行する hybridization chain reaction (HCR) に着目し、HCR と光電流検出法を組み合わせた新規核酸検出センサーの開発を目指した。HCR は Initiator DNA と相補的な配列を持つヘアピン DNA (H1)、H1 と相補的な配列を持つヘアピン DNA (H2) を連鎖的に反応させ、等温で連続的に二本鎖伸長を行う方法であり、温度変化と酵素反応を不要なシグナル増幅法である。電極表面に固定した Capture DNA によって Initiator を固定し、H1 と H2 を加えて HCR を行った。二本鎖 DNA に結合する Ru 錯体の電気化学応答を用いて表面 HCR を調べた結果、HCR の進行に対応した Ru 錯体の電気化学シグナルの増加が確認された。DNA に結合する光レドックスの光電流発生を検出することで、HCR によるシグナルの増幅とターゲット DNA、RNA の検出について検討を行った。

