

生体高分子識別に向けた微小電流計測法の開発

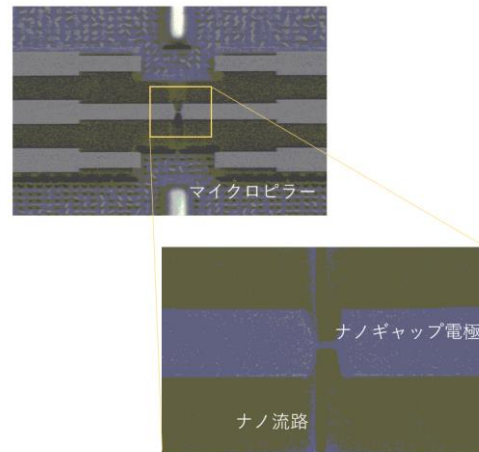
(大阪大学・産業科学研究所) ○大城 敬人, 筒井 真楠, 横田 一道, 谷口 正輝

生体高分子は、生物物本体を構成し、さまざまな機能発現する構成要素で、DNA・RNAなどの核酸塩基鎖、タンパク質のペプチド鎖、糖鎖がある。我々は、こうした生体高分子の構造や配列を知る方法として、トンネル電流を指標として単分子識別法を提案している。この方法論を用いることで、より高速・安価に配列を読み取ることができることが期待できる。

本研究では、ナノ流路に単分子識別能をもつギャップ電極を重ね合わせたデバイスにより、ロングリードが可能分子制御付きギャップで電極デバイス(図)を作成し、これを用いた生体高分子の識別や配列情報についての読み取りの原理実証を行った。

デバイスの原理実証として用いる、ナノ流路をもつ金ギャップ電極の作製法は以下の通りである。まず、銅基板あるいはシリコン基板表面に絶縁層となるポリイミド膜をスピコートし、その上に電子線描画法を用いて、金ナノ接合を形成する。その後、ポリイミドのエッチングを行い、free-standing な金ナノ接合を作製する。次に、この金ナノ接合部を機械的破断によりギャップを生成後、 piezo素子をもちいて電極間距離をトンネル電流測定可能な距離(サブナノメートルスケール)に固定する。試料となる生体高分子として、核酸塩基のモノマーやオリゴマーをリン酸緩衝溶液に 0.1-10 μ M 濃度の水溶液を調整して用いる。電流計測は、ギャップ電極間に 0.1-0.4V のバイアス電圧をかけ、両端に流れる電流をアンプして、National Instruments の PXIe システム(データ取得速度 10-100kHz)で計測を行っている。

溶液中の核酸塩基鎖は、ナノギャップ電極間を通る時、分子を介したトンネル電流が流れるため、分子由来の電気的なシグナルが計測される。この時、通過する核酸塩基の種類が転移するごとにコンダクタンス変化が起こる。この分子シグナルのコンダクタンスは、核酸塩基モノマーの相対コンダクタンスをもとに、通過した核酸塩基分子種の識別し、リード方向の時間変化やリード数の変化について統計的解析を行った。このとき、核酸塩基種ごとのコンダクタンスの大小は、分子軌道計算の結果から考察すると、各分子の電子状態 HOMO の関係していると考えられる。試料核酸塩基鎖の配列ごとのコンダクタンスの分布から、ナノ流路を介した分子挙動に摂動を与えることで、分子の流動性や配向制御に寄与し、核酸塩基分子識別とその配列情報を読み取りに影響を与えると考えられ、その結果リシーケンシングが可能であることが示唆された。



ナノ流路付きギャップ電極デバイスの SEM 像: DNA 溶液は、マイクロピラー部分より入れて、ギャップ電極を通過する。