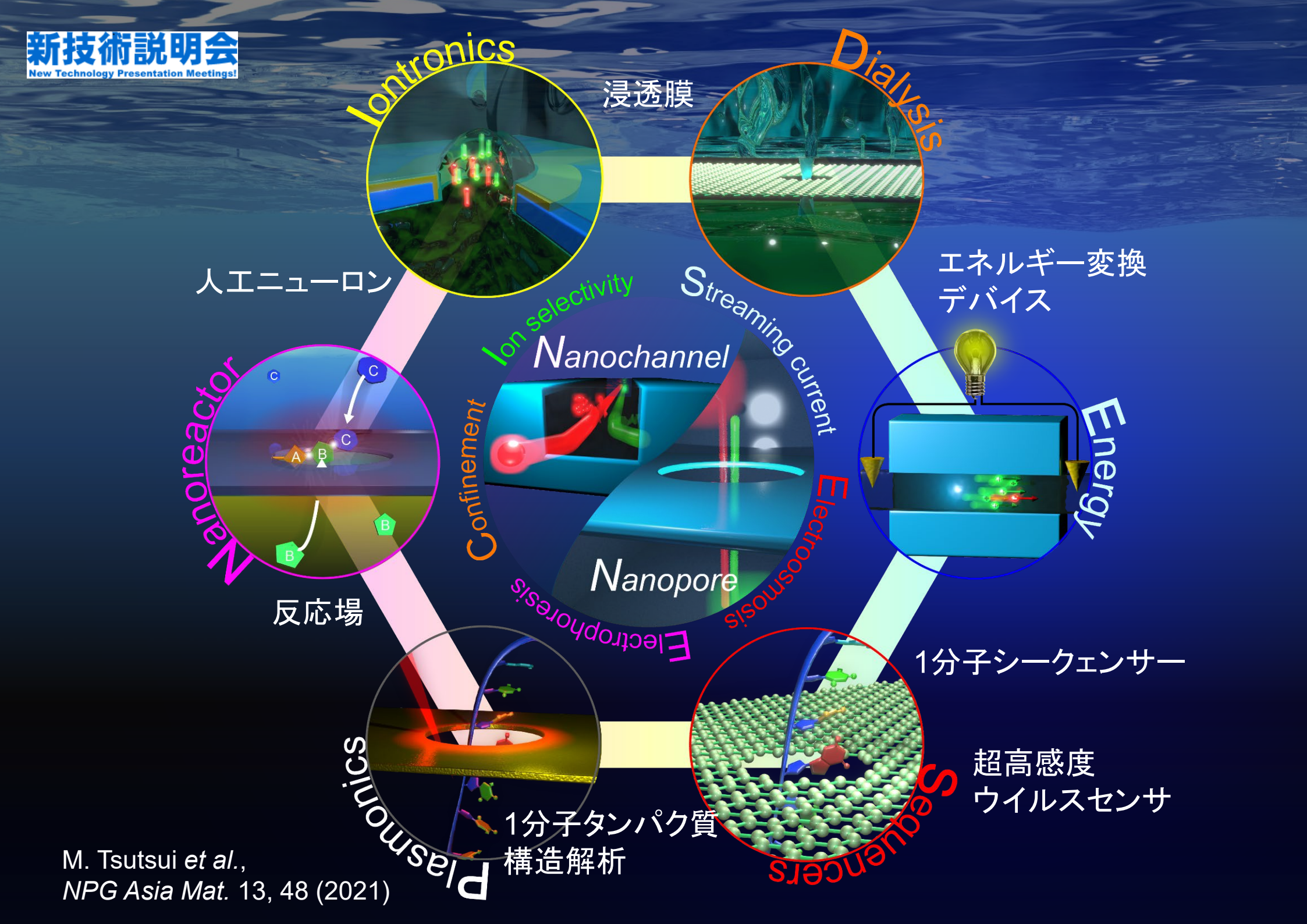
新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!

ナノポアイオン電流信号増強法

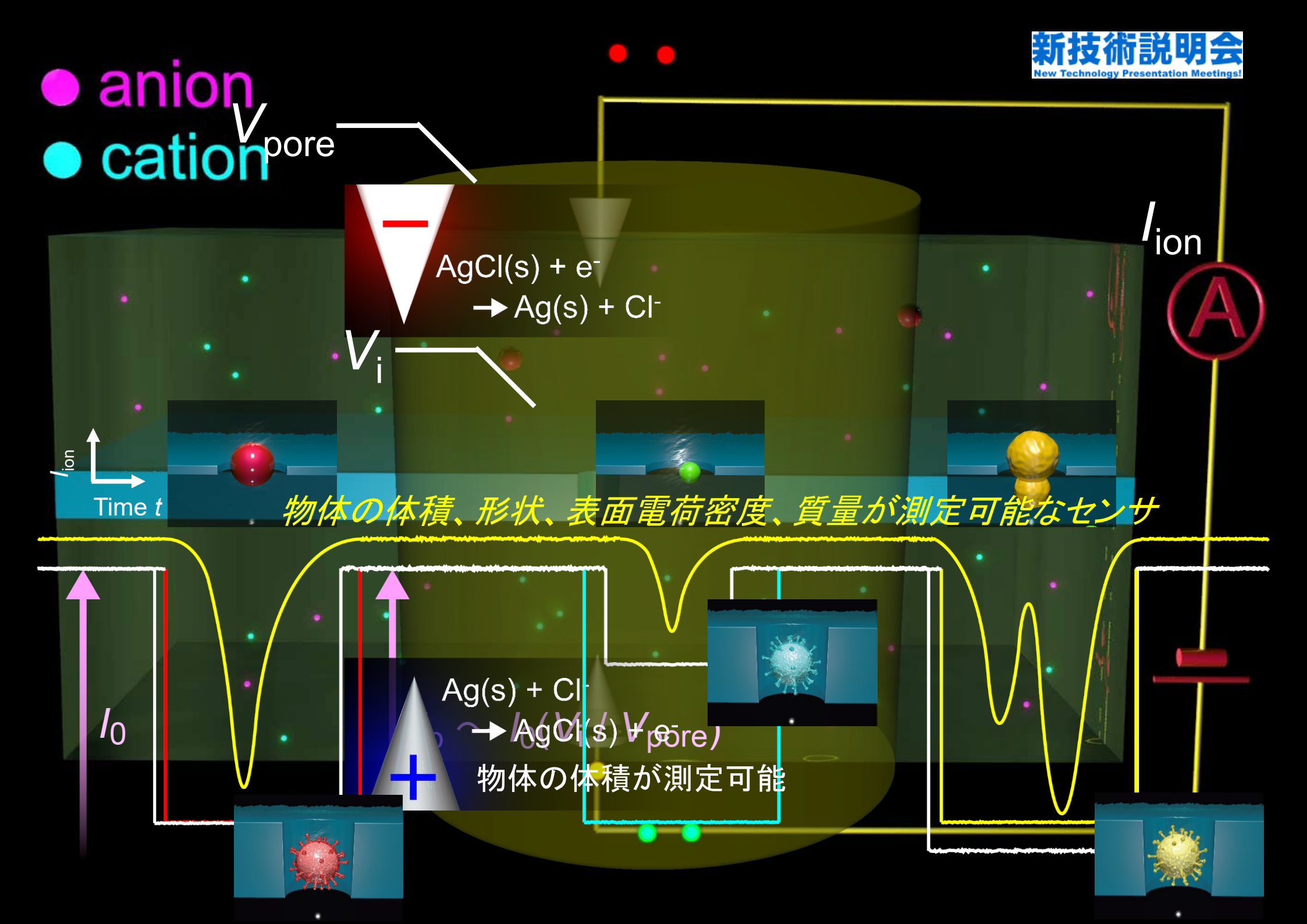
大阪大学　産業科学研究所
准教授　筒井 真楠

2023年2月2日

新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!



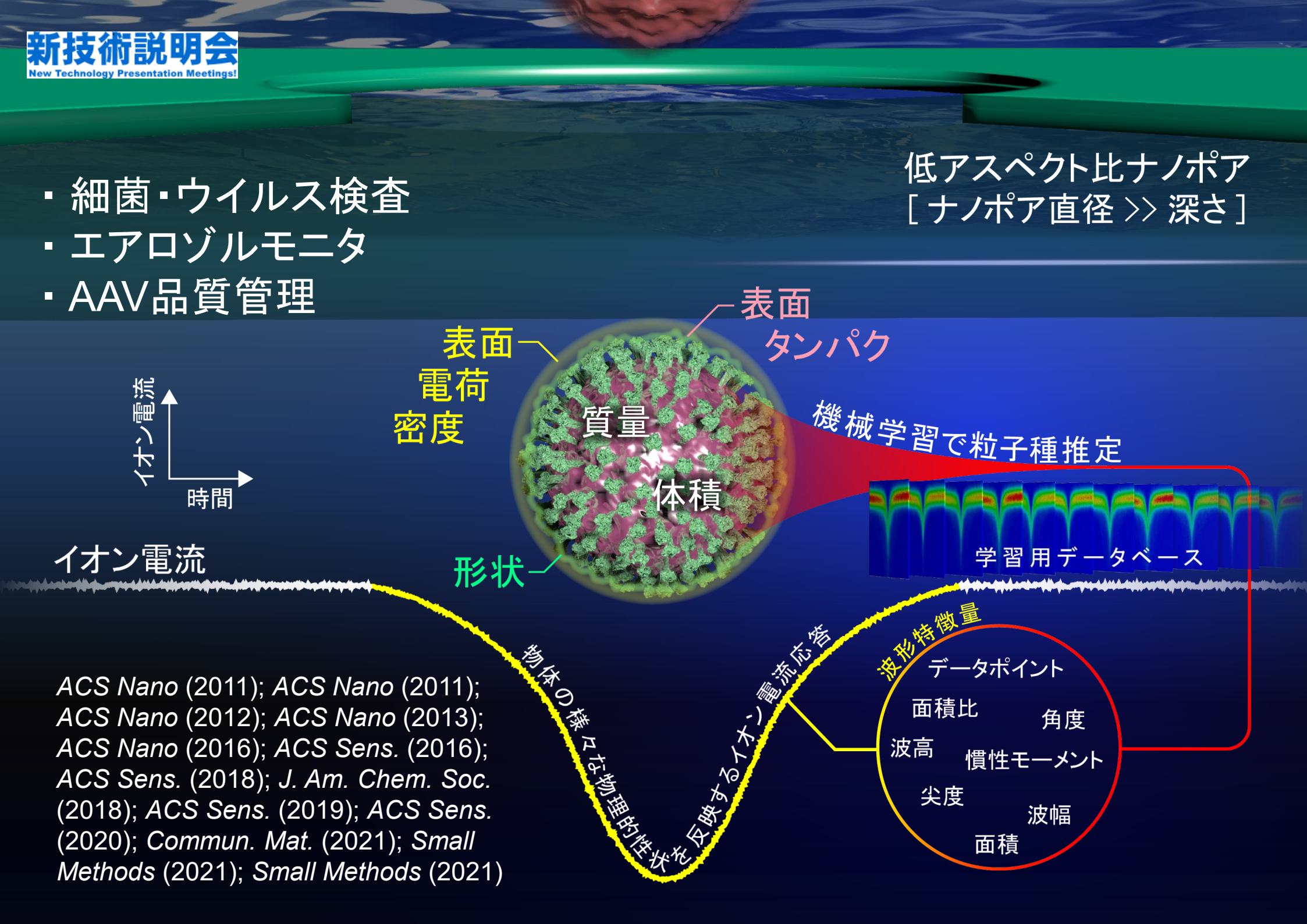
M. Tsutsui *et al.*,
NPG Asia Mat. 13, 48 (2021)


anion
cation
V_{pore}
AgCl(s) + e⁻
→ Ag(s) + Cl⁻
V_i
I_{ion}
A
I_{ion}
Time t
物体の体積、形状、表面電荷密度、質量が測定可能なセンサ
I_0
Ag(s) + Cl⁻
→ AgCl(s) + e⁻
物体の体積が測定可能

新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!

- 細菌・ウイルス検査
- エアロゾルモニタ
- AAV品質管理

低アスペクト比ナノポア
[ナノポア直径 >> 深さ]



ACS Nano (2011); *ACS Nano* (2011); *ACS Nano* (2012); *ACS Nano* (2013); *ACS Nano* (2016); *ACS Sens.* (2016); *ACS Sens.* (2018); *J. Am. Chem. Soc.* (2018); *ACS Sens.* (2019); *ACS Sens.* (2020); *Commun. Mat.* (2021); *Small Methods* (2021); *Small Methods* (2021)

固体

ナノポアシーケンサの研究開発動向

ナノポア技術による
プロテオミクス解析

ナノポア計測には高純度・高濃度の分子試料が必要

しかし・・・

DNA：PCR 増幅

DNA 以外：増幅できない

2008 年～

1000 ゲノムプロジェクト
（NIH）

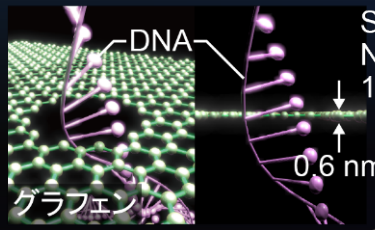
2009

2018

2021

新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!

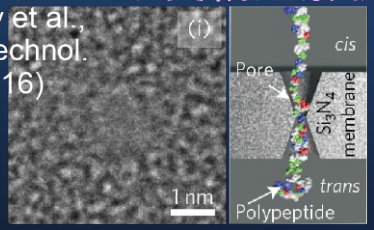
2 次元ナノポア



S. Garaj et al.,
Nature 467,
190 (2010)

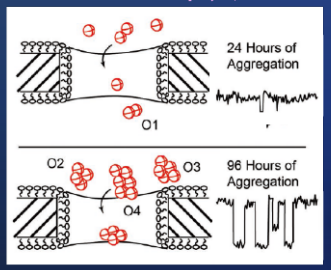
ナノポアシーケンサーの開発
（Oxford Nanopore 社）

タンパク質構造解析



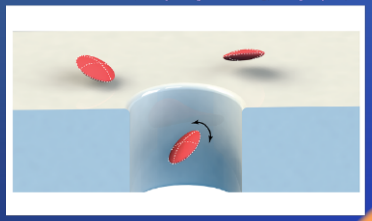
E. Kennedy et al.,
Nat. Nanotechnol.
11, 968 (2016)

アミロイド識別



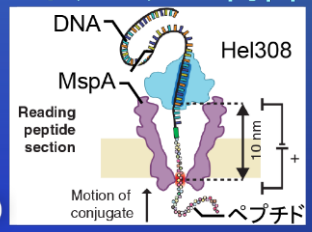
J. Houghtaling et al.,
Small 14,
1802412 (2018)

タンパク質形状識別



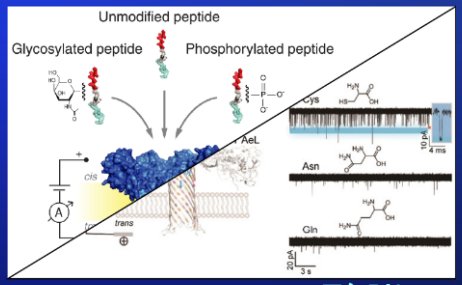
J. Houghtaling et al.,
ACS Nano
13, 5231 (2019)

ダイナミクス制御



C. Dekker et al.,
Science
374, 1509 (2021)

翻訳後修飾の検出

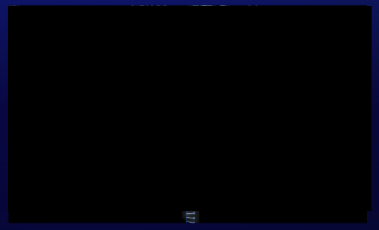


L. Restrepo-Perez et al.,
Nano Lett. 19,
7957 (2019)

B. Yuan et al.,
Analyst 145,
1179 (2020)

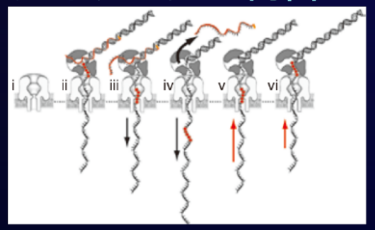
1 アミノ酸識別

MinION

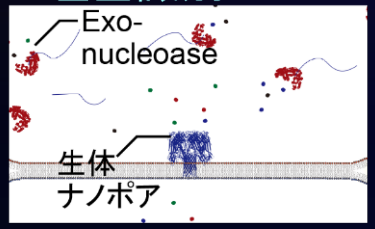


G. M. Cherf et al.,
Nat. Biotechnol. 30,
344 (2012)

ダイナミクス制御



1 塩基識別

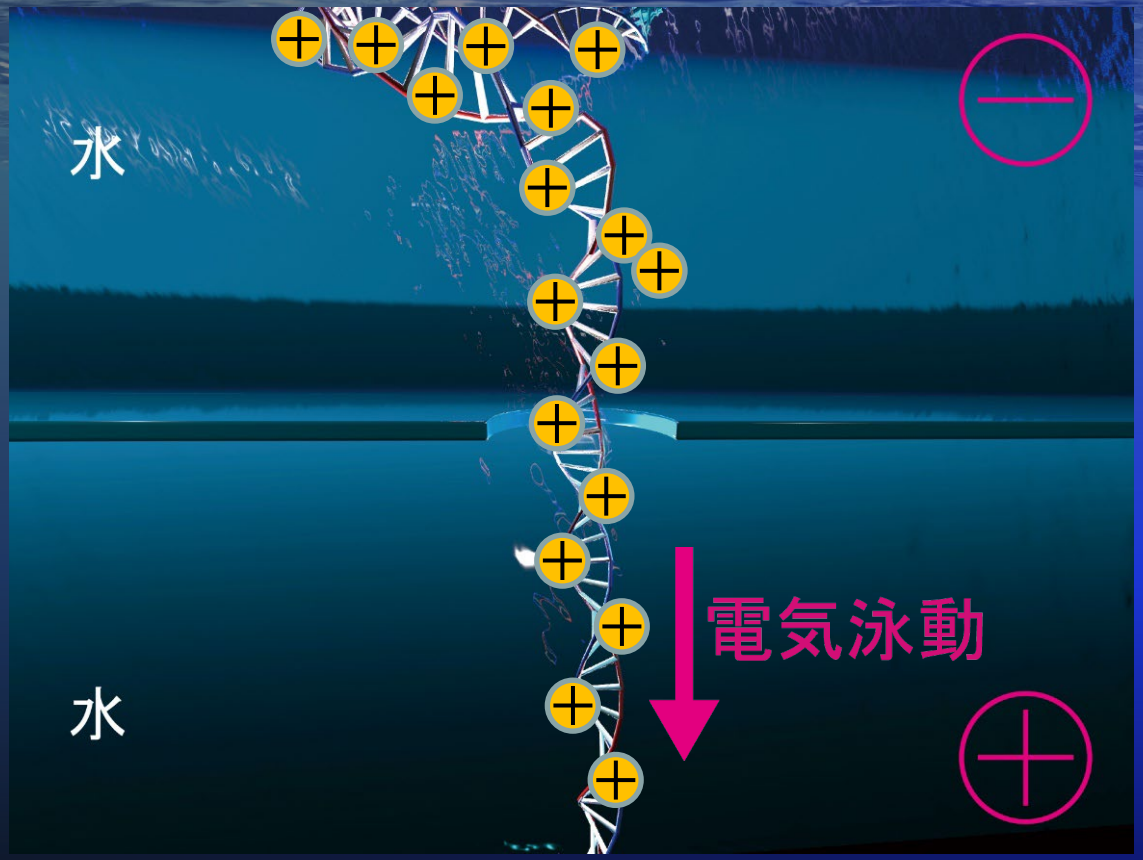


J. Clarke et al.,
Nat. Nanotechnol. 4, 265 (2009)

生体

固体ナノポアを用いたゲノム解析における課題

新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!



固体ナノポアによる DNA 検出：

- 高速な DNA の通過速度のため、１塩基分子毎の電流変化を検出できない
- 微弱なイオン電流信号強度

従来技術

新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!

① 液体条件最適化（〇）
イオン濃度を最適化することで、信号/ノイズ比を向上
（通常取られる工夫）

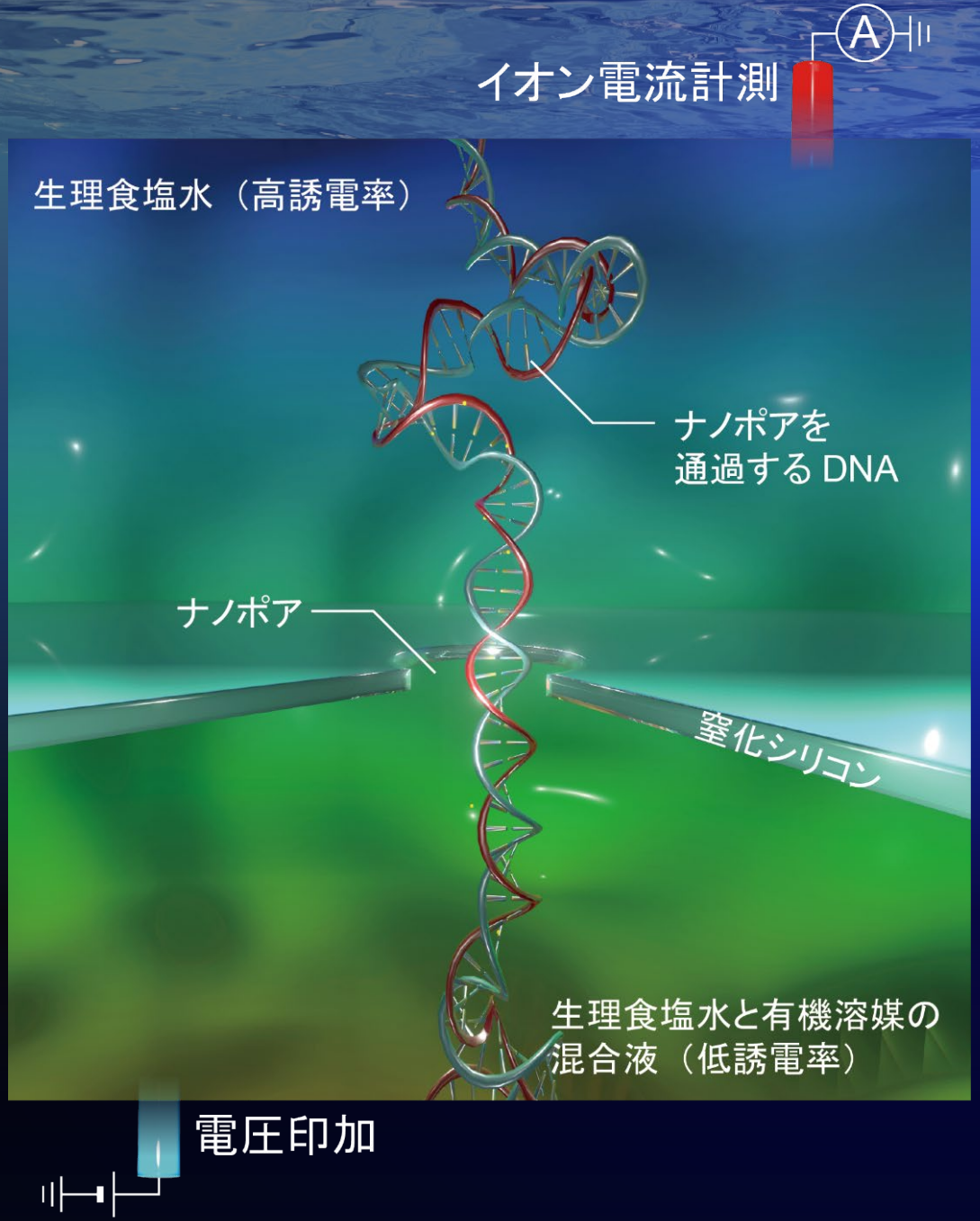
② バイアス電圧（×）
ナノポアに加える電圧を増大させると、信号を大きくできるがノイズも増大する

③ ナノポアチップ設計（◎）
ナノポアチップをポリマー膜で被覆することで電気容量を低下させノイズを低減

④ デジタル処理（〇）
信号をデジタル処理することでノイズが低減できるが信号波形は若干鈍化する

液体の誘電率

新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!



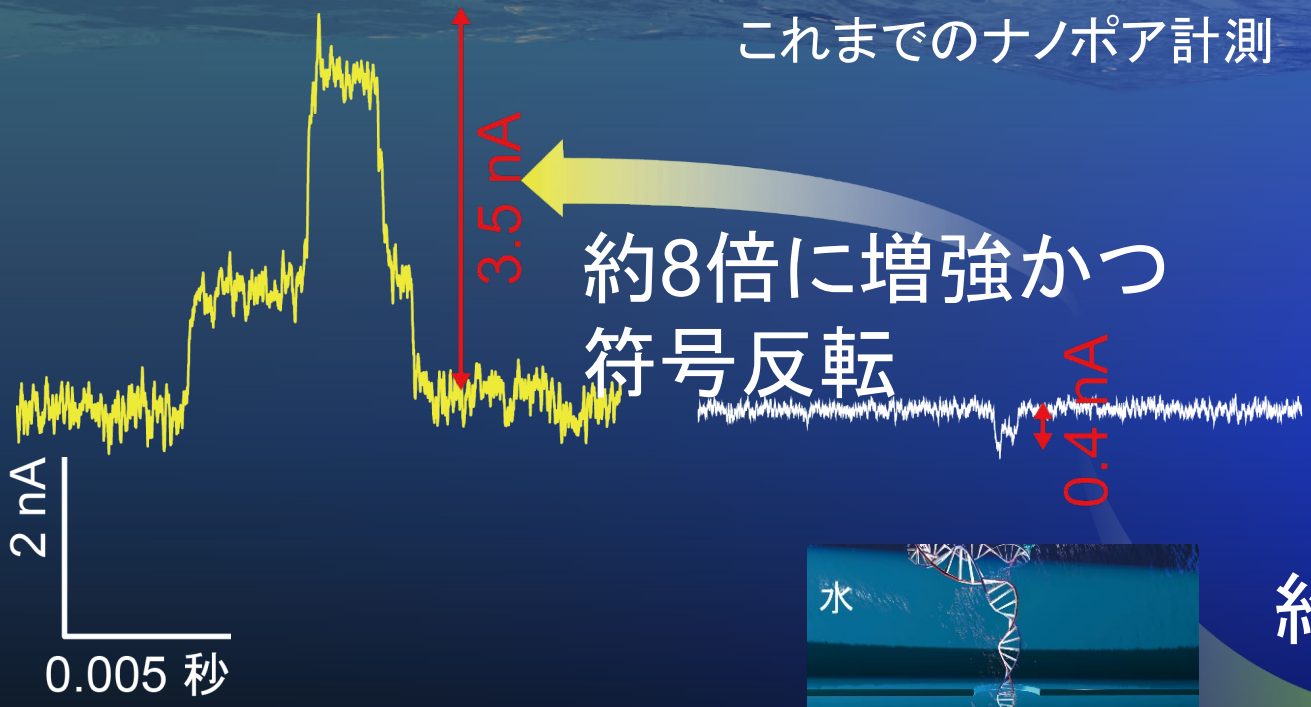
誘電率勾配で増強されるイオン電流信号

正の誘電率勾配

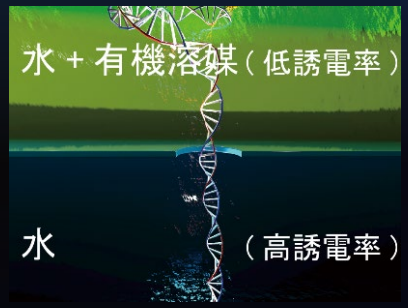
勾配なし

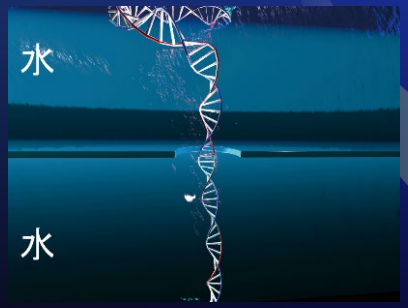
負の誘電率勾配

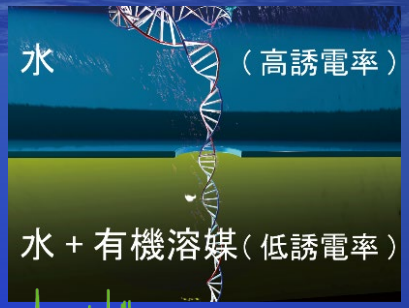
これまでのナノポア計測



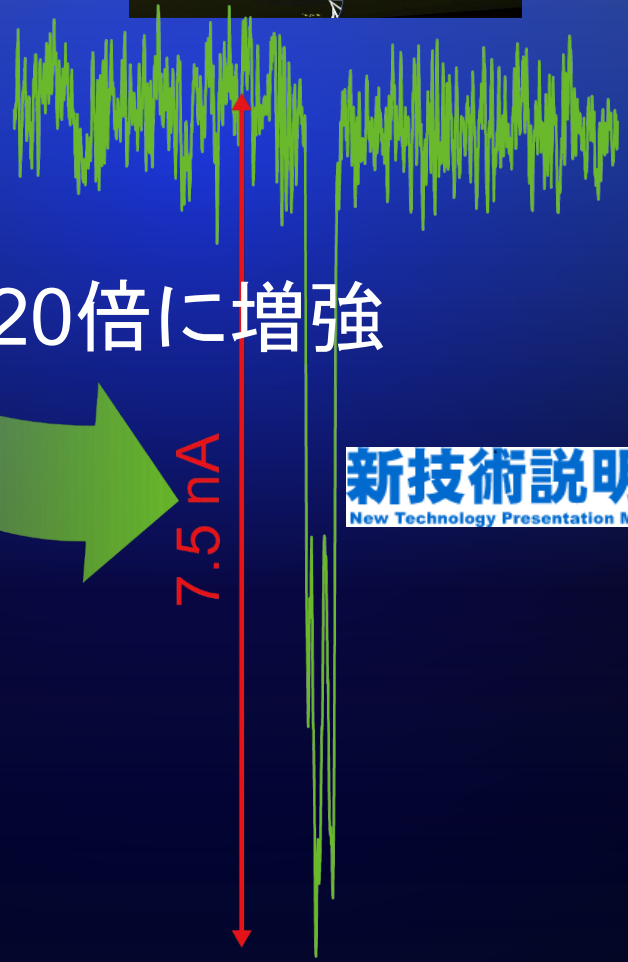
約8倍に増強かつ
符号反転





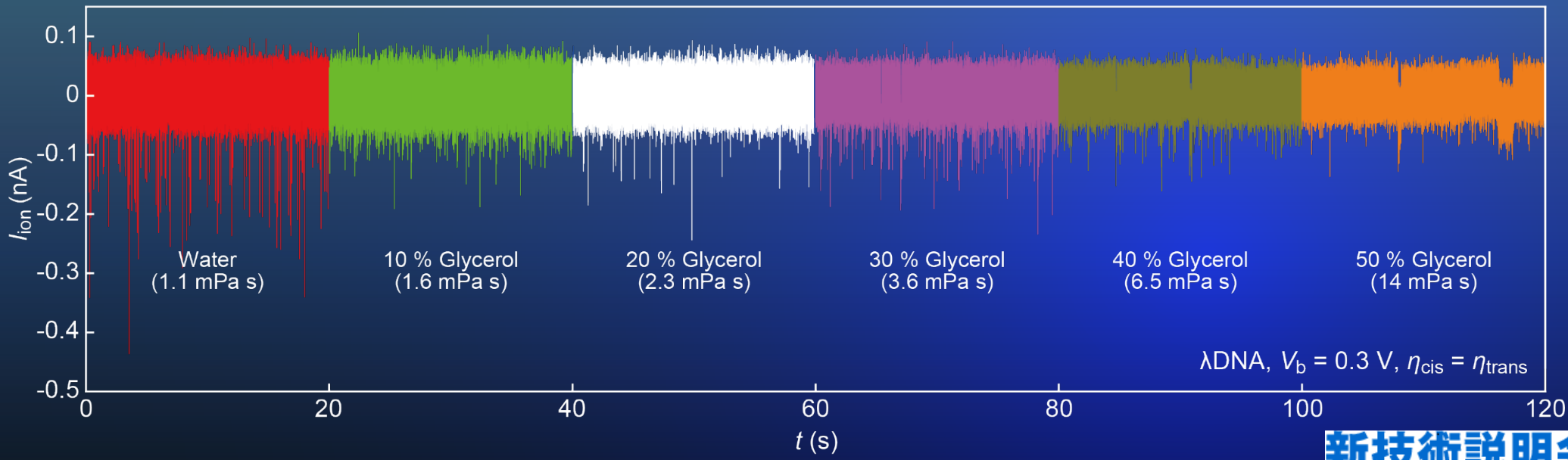


約20倍に増強

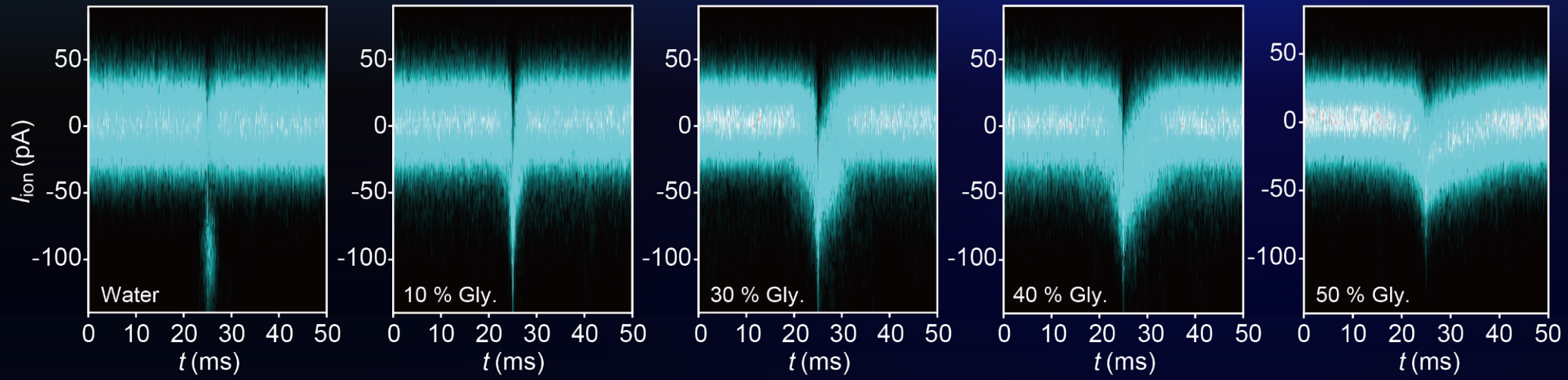


新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!

粘性を均一に変化させた場合は増幅無し

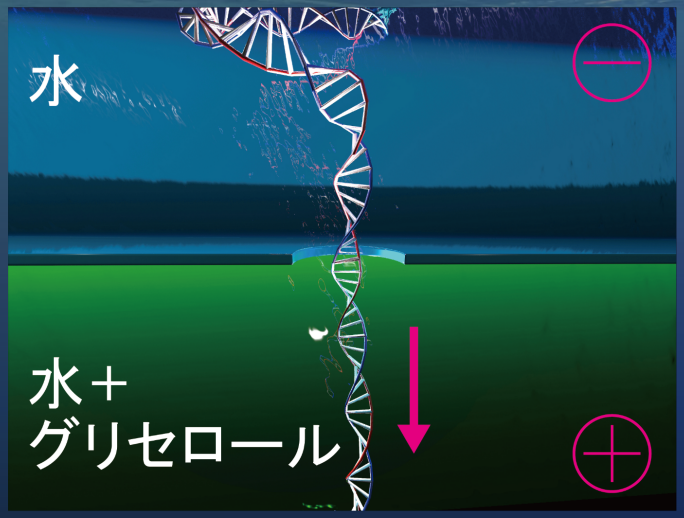


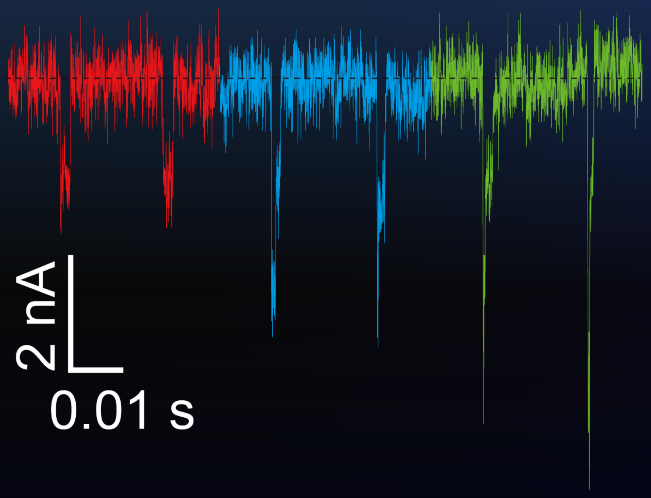
新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!

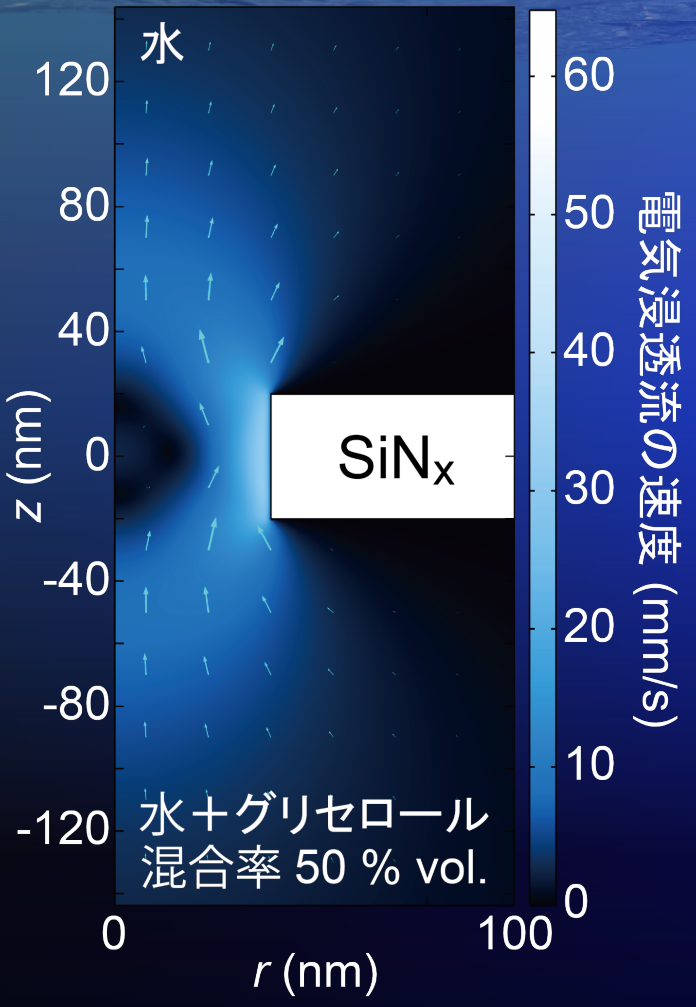


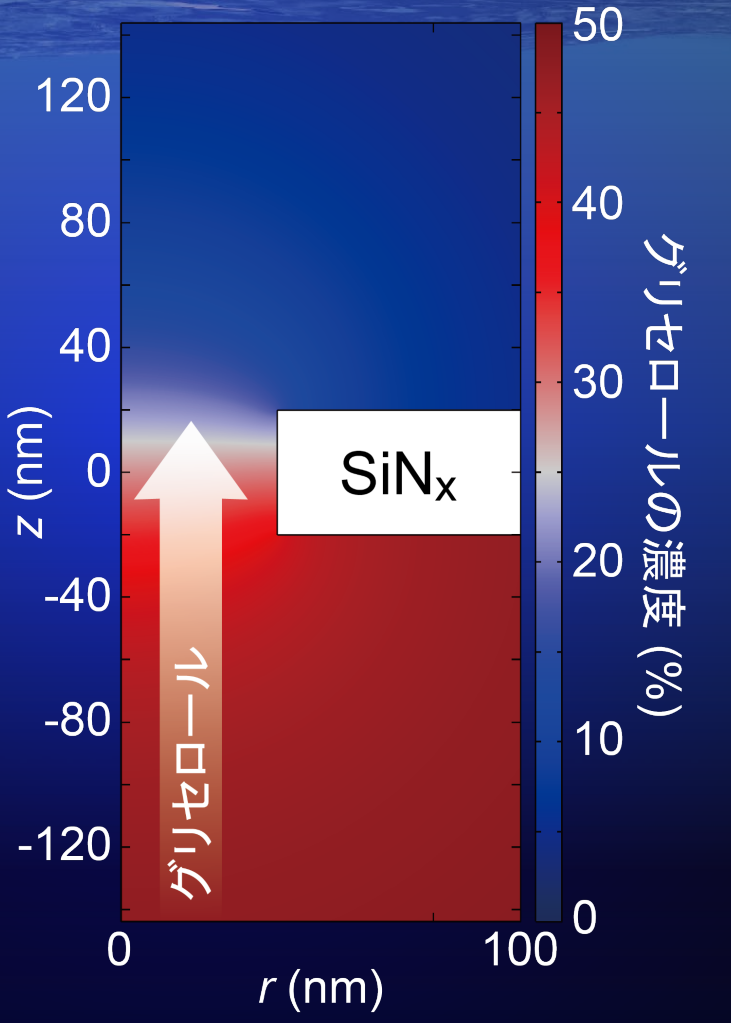
信号増強：負の誘電率勾配の場合

新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!



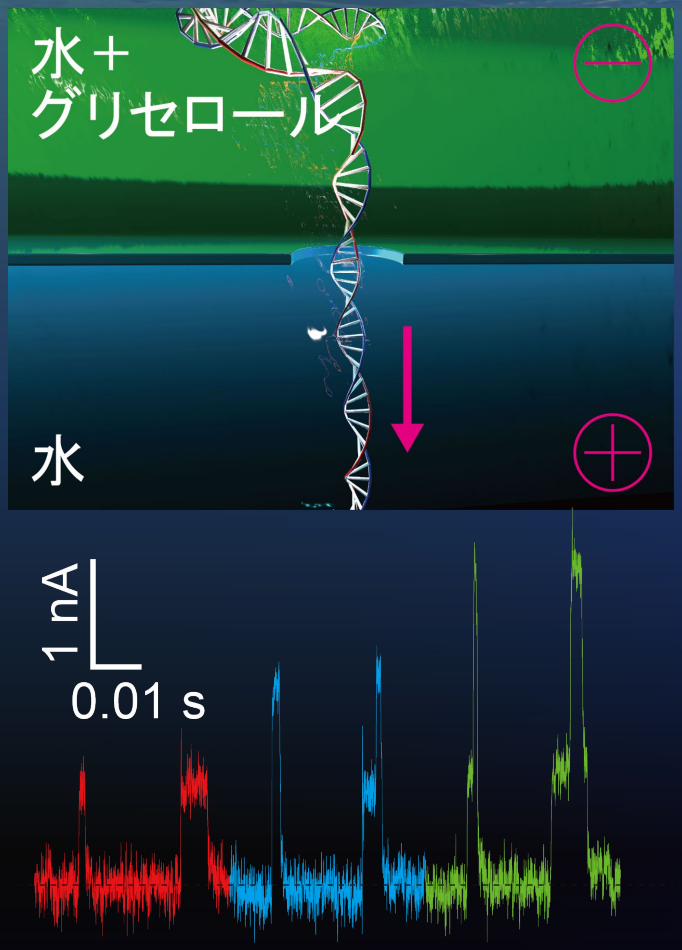


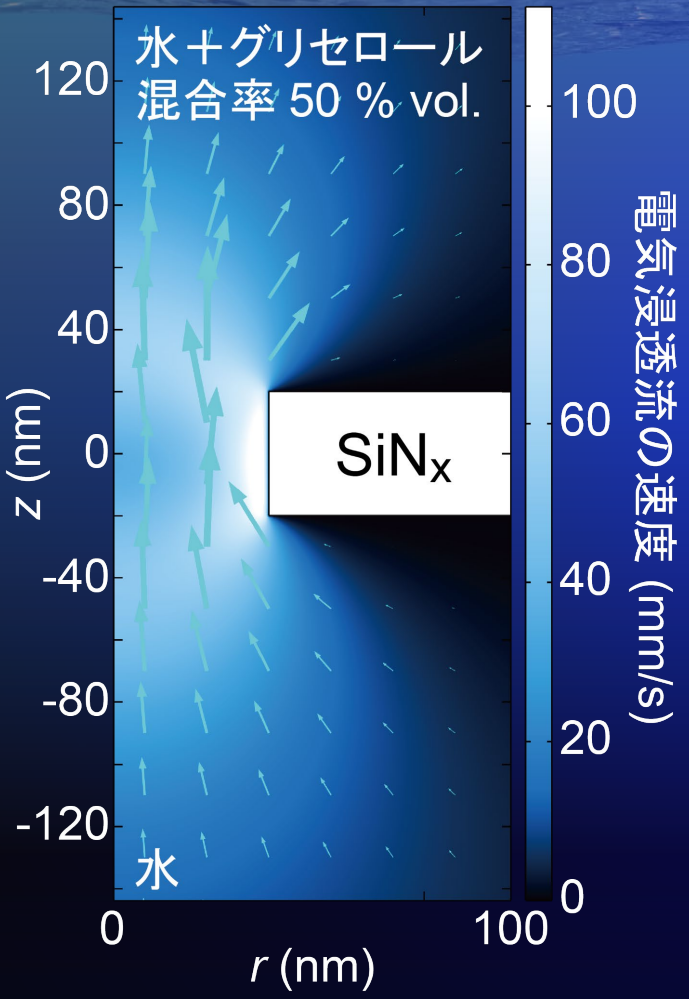


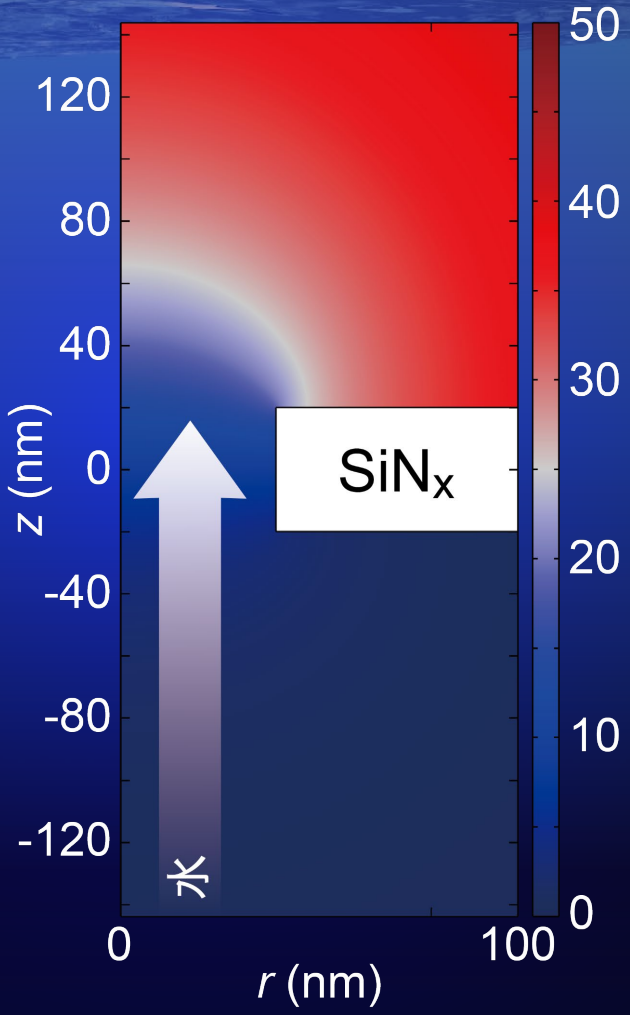


信号増強：正の誘電率勾配の場合

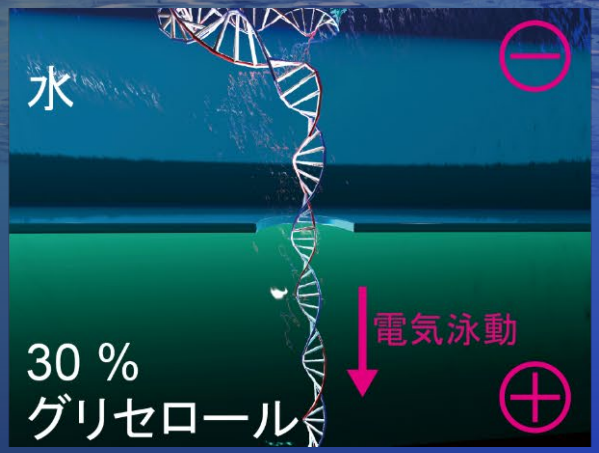
新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!

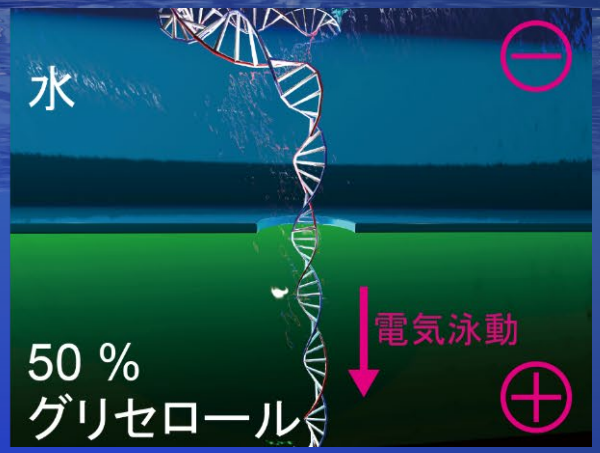






高粘性有機溶媒によるDNAの減速効果

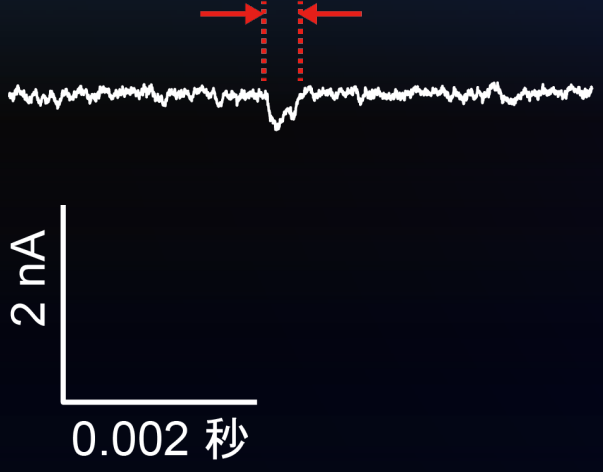




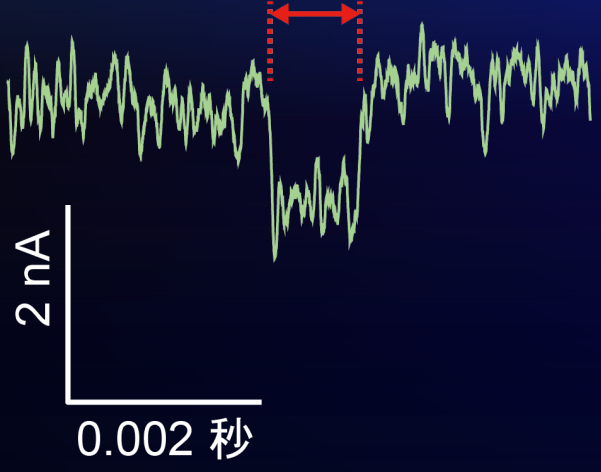
低粘度
(1.5 mPa s)
&
低誘電率勾配

高粘度
(14 mPa s)
&
高誘電率勾配

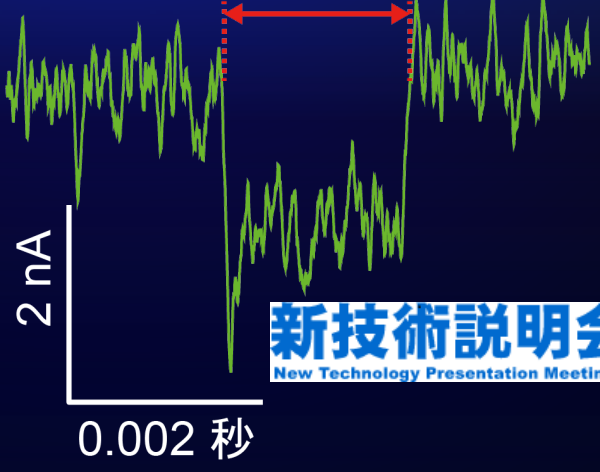
DNA のナノポア通過時間
360 μs



DNA のナノポア通過時間
950 μs



DNA のナノポア通過時間
2070 μs



新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!

新技術の特徴･従来技術との比較

- 従来技術の問題点であった、DNAの微弱なイオン電流信号を増強することに成功した。

- 本技術の適用により、イオン電流波形による1分子識別精度が向上するため、ナノポアシーケェンサの塩基配列解読精度が改善されることが期待される。

想定される用途

- 片側に有機溶媒を加えるという簡単な手法であり、従来のナノポアセンサにそのまま応用できる。
- また、DNAだけでなくRNAやタンパク質についても同様の効果が期待でき、トランスクリプトーム解析やプロテオーム解析といった用途に展開することも可能と思われる。

実用化に向けた課題

- 現在、DNAについて十倍以上の信号増強が可能なところまで開発済み。しかし、ナノポア素子の量産化が未解決である。
- 今後、タンパク質について実験データを取得し、1分子タンパク質構造解析やペプチドシークェンサに適用していく場合の条件設定を行っていく。

企業への期待

- 未解決のナノポア素子の量産化については、微細加工の技術により克服できると考えている。
- 微細加工の技術を持つ、企業との共同研究を希望。
- また、シーケェンサや微粒子分析技術を開発中の企業、医療分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 :イオン電流測定方法および
  イオン電流測定用デバイス
- 出願番号 :特願2022-160261
- 出願人 :大阪大学、産業技術総合
  研究所
- 発明者 :筒井真楠、横田一道、
  川合知二

お問い合わせ先

大阪大学
共創機構 イノベーション戦略部門 知的財産室

＜ＴＥＬ＞ 06－6879－4861
<e-mail>　tenjikai@uic.osaka-u.ac.jp