



DNAチップ電気化学発光検出を目指した 新規な挿入錯体の開発

研究代表者 千喜良誠 研究員

研究目的と背景

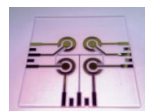
DNAチップは、テーラーメイド医療などで必須となる遺伝子診断における遺伝子検出の素子として、巨大な市場を形成することが予想され、現在、激しい開発競争が繰り広げられている。DNAの検出において、レーザーと色素あるいは蛍光ラベル剤を組み合わせた光学的検出法が主に用いられているが、検出に必要な機器や、またチップ自体も高価になり、急速な普及の面ではまだまだ大きな問題を抱えている。

本研究では、装置の構成が簡明で高検感度検出が期待される電気化学発光を利用したDNA検出法の開発を目指し、新規なDNA挿入錯体の開発を試みた。

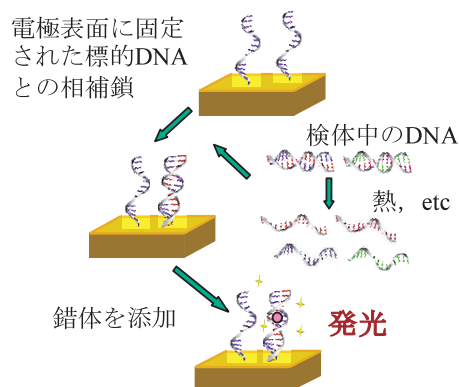
DNAチップリーダー



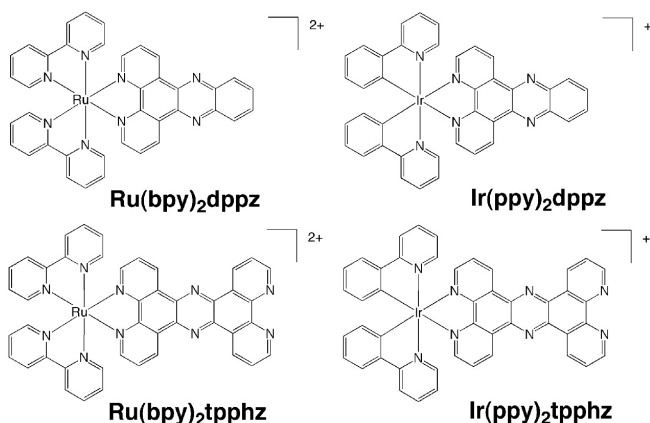
DNAチップ



標的遺伝子の検出法



錯体



特徴

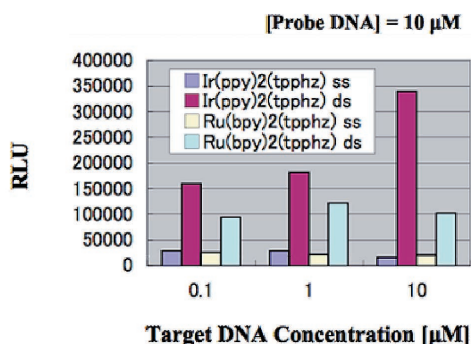
- 二本鎖DNA (ds) 塩基対間に自身の広い平面芳香環部位を挿入して強く結合
- バルク水溶液中、並びに一本鎖DNA (ss) 共存化ではほとんど発光しないが、ds存在下で強く発光(光スイッチング機能)

結合定数 (K_b) と結合サイトサイズ (s)

	$K_b \times 10^{-5} (M^{-1})$	s
[Ir(ppy) ₂ (dppz)]Cl	2.8(5)	1.08(6)
[Ir(ppy) ₂ (tpphz)]Cl	-	-
[Ru(bpy) ₂ (tpphz)]Cl ₂ *	88	2.22

* Yao Liu, et al *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127,10796-10797

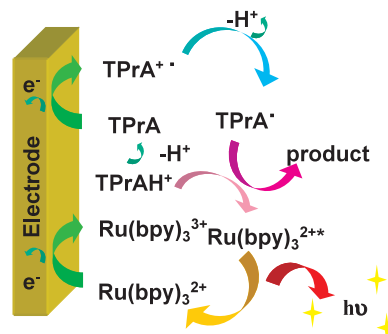
ECL測定



DNAchip reader
マイクロテックニチオン社製
CV
measurement time 3 s
setting voltage 0~1500 mV
sweep rate 3 V/s

100 mM TPrA
100 mM Phosphate buffer
30 mM NaCl
pH 8.6

発光メカニズムの一例



まとめ

フェナジン部位を有するルテニウム錯体並びにイリジウム錯体は、一本鎖DNA存在下(標的DNA無しに対応)ではほとんど発光が確認されなかったのに対し、二本鎖DNA存在下(標的DNA有りに対応)では強い発光を示した。そのECL強度、コントラスト共にイリジウム錯体の方が高い値を示す事が判った。