

※課題番号 : F-12-UT-0131  
※支援課題名 (日本語) : シリコンナノピンセットを用いた恒温DNA増幅と電気検出  
※Program Title (in English) : DNA amplification on nanotweezers and electrical detection  
※利用者名 (日本語) : 久米村百子<sup>1)</sup>、ロラン ジャラベール<sup>1)</sup>、ドミニク コラール<sup>1)</sup>・スタニスラフ カースタン<sup>2)</sup>  
※Username (in English) : Momoko Kumemura<sup>1)</sup>, Laurent Jalabert<sup>1)</sup>, Dominique Collard<sup>1)</sup>, Stanislav Karsten<sup>2)</sup>  
※所属名 (日本語) : <sup>1)</sup>フランス科学研究センターLIMMS国際共同研究所, <sup>2)</sup>NeuroInDx社  
※Affiliation (in English) : <sup>1)</sup>LIMMS, CNRS France, <sup>2)</sup>NeuroInDx, Inc

※概要 (Summary) :

ウイルスや細菌による感染症は、現代でも見過ごすことができない疾病であり、感染を早期に発見することが望まれる。検査には病原体のDNAを検出できるまでに増幅したのち分析が行われる。Rolling circle amplification は、温度を一定のまま酵素反応のみにより環状DNAを増幅する方法である。一方で、MEMS デバイスは、サイズが小さい特徴を持つとともに、電気信号の入出力が容易という利点を持つ。本研究では、シリコンナノピンセット上でDNAを増幅したのち、電気計測を行い、環状DNAのMEMSデバイスによる検出を試みた。

※実験 (Experimental) :

ナノピンセットのフォトマスクは、高速大面積電子線描画装置、マスク・ウェーハ自動現像装置群、クリーンドラフト潤沢超純水付を用いて作製した。シリコン窒化膜、酸化膜の成膜とフォトリソグラフィ、DRIとTMAHの異方性エッチングによりシリコンナノピンセットを作製した。ナノピンセットにはアルミニウムを蒸着したのち、シャドウマスクを用いてプローブ部分のみを金で蒸着した。

DNA増幅反応のために、はじめにプローブにチオール修飾のプライマを付加させた。その後、環状DNAと酵素を加え、プローブ上でのDNA増幅を行った。反応は、混合反応液にプローブを浸し、30°C2時間で行った。増幅したDNAをプローブ間に捕捉するために交流電圧を印加し誘電泳動を行ったのち、DNAを光学顕微鏡により観察した。また、捕捉したDNAの電気計測を行った。

※結果と考察 (Results and Discussion) :

誘電泳動により増幅したDNAをプローブ間に捕捉した結果を図1に示す。はじめのプライマの長さは数

十nmであり、予想した増幅後の長さは4 $\mu$ mであった。プローブのギャップは5 $\mu$ mであるため、大量のDNAが重なりながら捕捉されたと考える。

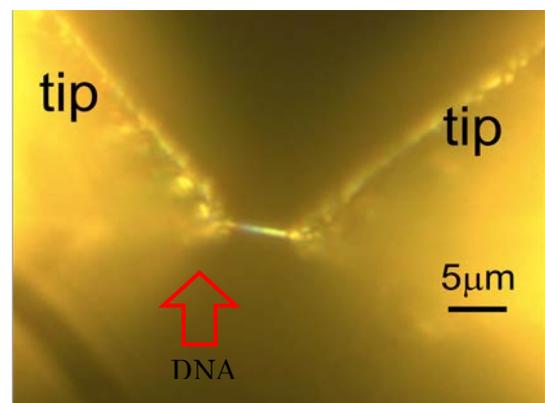


図1 : DNAを捕獲した様子

DNAを超純水でリンスしたのちに、電気計測を行った。DNA増幅前のナノピンセットの導電性は、pAオーダ(1-5V DC)であったが、増幅後は $\mu$ Aオーダに増加した。しかしDNAの導電性としては高すぎるため、デバイス本体にDNAバッファ中の塩などが付着したのではないかと考えられる。

※その他・特記事項 (Others) :

今後は、塩がデバイス本体に浸透しない撥水性処理などを検討する予定である。

共同研究者等 (Coauthor) :

藤田博之 (東京大学生産技術研究所)

論文・学会発表

(Publication/Presentation) :

M.Kumemura, H. Fujita, et al., The 7th International Conference on Microtechnologies in Medicine and Biology, April 10-12, 2013, LA, USA.

関連特許 (Patent) :

なし