

課題番号 : F-13-OS-0002, S-13-OS-0022  
利用形態 : 機器利用  
利用課題名 (日本語) : 単一DNA分子検出ナノ構造の作製  
Program Title (English) : Fabrications of nanodevices for single-molecule DNA detections  
利用者名 (日本語) : 筒井真楠<sup>1)</sup>  
Username (English) : M. Tsutsui<sup>1)</sup>  
所属名 (日本語) : 1) 大阪大学産業科学研究所バイオナノテクノロジー研究分野  
Affiliation (English) : 1) Department of Bio-Nanotechnology, ISIR, Osaka University

## 1. 概要 (Summary)

ナノポアセンサーでは、検体が流路を通過する際に生じる流路を通るイオン電流の変化を計測することで、検体の識別が行われる。しかし、この電気計測法では、実像を捉えることができないため、本当にイオン電流変化が検体由来のものであるかどうかの確証を得ることが難しい。そこで、マイクロ流路デバイスを作製し、これを用いて、蛍光観察法とイオン電流計測法を組み合わせた単一粒子検出法を新規に開発した。この方法では、イオン電流変化が生じている時に、同時刻に得られた蛍光観察像によって検体が流路を通過しているか否かを確認することができる。

## 2. 実験 (Experimental)

マスクアライナーを用いてカバーガラス基板上にマイクロ電極パターンを描画した。その後、高周波マグネトロンスパッタ法により、Au/Cr 層を蒸着させ、リフトオフプロセスを経て引き出し電極を得た。次に、基板上に Cr 層を蒸着した上で、引き出し電極の一部を外部マーカーとして用い、電子線描画法により微小流路をパターンニングした (レジスト : ZEP520A-7)。そして現像後、Cr エッチング液に基板を浸すことで、Cr マスクを作製した。更に、反応性イオンエッチング (反応ガス : CF<sub>4</sub>) により、SiO<sub>2</sub> を掘削することで、マイクロ流路を形成させた (Fig. 1)。

作製したマイクロ流路を用いて、流路中を電気泳動する単一蛍光粒子の、光・電気同時計測による検出を試みた。実験では、まず基板上に PDMS ブロックを接着させることで、流路を封止した上で、蛍光粒子を分散させた TE バッファー (Tris-HCl 10mM、EDTA 1 mM) を流路に送液した。次に、2 個の Ag/AgCl 電極を用いて電圧を加え、流路に蛍光粒子を電気泳動させた。そうした上で、高速電流アンプ (Axopatch 200B) 及びデジタイザを用いて、流路を通るイオン

電流を記録し、同時に基板の裏面から蛍光観察を行なった。

## 3. 結果と考察 (Results and Discussion)

単一粒子がマイクロ流路を通過したことを示唆するスパイク状のイオン電流応答が観測された。また、同時に撮影した蛍光観察像において、イオン電流変化が観測された時点と同時刻に、蛍光粒子が流路を通過している様子が確認できた。以上の結果により、イオン電流信号が、想定されていたとおり、検体が流路を通過したことに起因する現象であることを明らかにすることができた。<sup>(1)</sup>

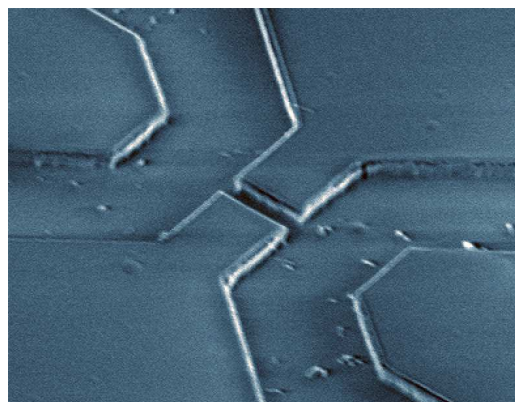


Fig. 1 SEM micrograph of a linear microchannel with width of 1.4 um

## 4. その他・特記事項 (Others)

なし

## 5. 論文・学会発表 (Publication/Presentation)

(1) N. Yukimoto, M. Tsutsui, Y. He, H. Shintaku, S. Tanaka, S. Kawano, T. Kawai, and M. Taniguchi, Sci. Rep., Vol. 3 (2013) p.p.1855.

## 6. 関連特許 (Patent)

なし