

課題番号 : F-13-UT-0012  
 利用形態 : 機器利用  
 利用課題名 (日本語) : シリコンナノピンセット上での DNA 恒温増幅と DNA の機械・電気検出  
 Program Title (English) : DNA amplification on silicon nanotweezers and it's electrical detection  
 利用者名 (日本語) : 久米村百子<sup>1)</sup>, スタニスラフ・カーステン<sup>2)</sup>, ラフィット・ニコラ<sup>1)</sup>, ローラン・ジャラベール<sup>1)</sup>, ドミニック・コラル<sup>1,3)</sup>  
 Username (English) : M. Kumemura<sup>1)</sup>, S. L. Karsten<sup>2)</sup>, N. Lafitte<sup>3)</sup>, L. Jalabert<sup>3)</sup>, D. Collard<sup>1,3)</sup>  
 所属名 (日本語) : 1) フランス国立科学研究センター, リムス共同研究ラボ 2) 米国ニューロインデックス社, 3) 東京大学生産技術研究所  
 Affiliation (English) : 1) LIMMS/CNRS-IIS, 2) NeuroInDx. Inc. (USA), 3) IIS, The University of Tokyo,

## 1. 概要 (Summary)

酵素 Phi29 を用いた Rolling Circle Amplification (RCA) 法は、恒温における一本鎖 DNA 増幅方法であり、ウイルスやバクテリアなどの DNA 増幅方法として期待できる。本研究では、マイクロマシニングにより作製したシリコンナノピンセット (SNT) の先端に長さ数十 nm のオリゴヌクレオチドを修飾したのち、RCA 法により増幅し、5 $\mu$ m の SNT 先端のギャップに橋渡しし、共振周波数変化と電気計測を行った。

## 2. 実験 (Experimental)

SNT のフォトマスクは、武田先端知の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、DRIE と TMAH の異方性エッチングにより SNT を作製した。SNT は、対象物質を捕捉する2本のプローブ、プローブを駆動する櫛歯アクチュエータ、変位容量センサから構成される。金蒸着した SNT プローブにチオール修飾したオリゴヌクレオチドを付加させたのち、酵素により DNA を増幅した。各試薬溶液の反応は、マイクロチャンバは満たし、ここに SNT プローブを挿入することで行った。増幅反応では、実験セットアップ全体をオープンに入れて2時間定温 (30 $^{\circ}$ C) 放置した。反応後、誘電泳動により増幅した DNA をプローブ間に橋渡しした。

## 3. 結果と考察 (Results and Discussion)

SNT プローブを反応溶液から取り出し、共振周波数変化を計測した (図1)。DNA が増幅・橋渡しされる前と増幅・橋渡し後では、共振周波数が 1669.3Hz から 1377.7Hz に変化した。また DNA を純水に浸し

てリンスした後、計測を行った。印加した電圧範囲、は 0.5-8.5V であり、5V の場合、DNA がいない場合と比べて、10 倍の電流値を得た。これにより、DNA の電氣的な検出が可能であると考えられる。

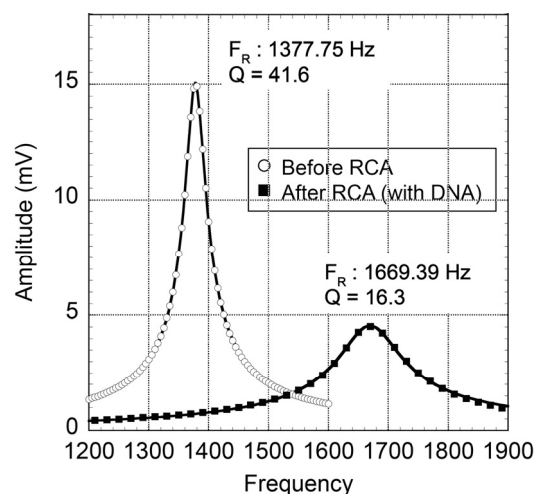


Fig.1 Measurement of resonant frequency of amplified DNA.

## 4. その他・特記事項 (Others)

共同研究者 藤田博之 (東京大学生産技術研究所)

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

1) M. Kumemura, S. L. Karsten, N. Lafitte, H. Guillou, L. Jalabert, H. Fujita, D. Collard, Proceedings of The 17th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2013), pp. 1992-1994, Freiburg, Germany, 31st 2013,

## 6. 関連特許 (Patent)

なし