

課題番号 : F-14-KT-0013
 利用形態 : 機器利用
 利用課題名(日本語) : X線1分子動態計測法で用いる低ノイズ観測チャンバの開発
 Program Title (English) : Development of microfabricated chamber for the diffracted X-ray tracking method
 利用者名(日本語) : 平井 義和¹⁾, 清水 啓史²⁾
 Username (English) : Y .Hirai¹⁾, H. Shimizu²⁾
 所属名(日本語) : 1) 京都大学, 2) 福井大学
 Affiliation (English) : 1) Kyoto University, 2) University of Fukui

1. 概要(Summary)

蛋白質分子の動的構造情報や機能相関を詳細に解析することを目標に、生体分子1分子に標識した金ナノ結晶の運動を計測するX線1分子動態計測法が注目されている。この方法では金ナノ結晶を観測用プローブとしてイオンチャンネル蛋白質に固定し、放射光白色X線を観測光としてチャンネル分子の構造変化を金結晶からの回折点の運動として動画記録する。しかし、蛋白質の運動を定量的に評価可能な計測法として確立するには、金ナノ結晶からの回折点を計測できるバックグラウンドノイズが低い観測チャンバの開発が必要である。

2. 実験(Experimental)

・利用した装置

高速マスクレス露光装置、ドライエッチング装置

・実験方法

低ノイズ観測チャンバの作製には京大・ナノハブ拠点の高速マスクレス露光装置、ドライエッチング装置を利用した。具体的には窒化膜付 Si ウェハで KOH を使った Si 異方性エッチングにより、厚さ 200 nm の Si 窒化膜のメンブレンを作製、その後プラズマ CVD 装置により Si 酸化膜を形成した。溶液循環用のマイクロ流路の作製には、移動マスク露光装置を使い、これにより Si 窒化膜/ネガレジスト観測チャンバを構成した。また参照用デバイスとして一般的なマイクロ流路作製技術であるソフトリソグラフィによるガラス/PDMS 観測チャンバを作製した。これらのデバイスにシリンジポンプから電解質溶液を送液し、SPring8 (BL28B2) でバックグラウンドノイズの測定を行った。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

Fig. 1 にバックグラウンドノイズの測定結果を示す。

従来のガラス/PDMS 観測チャンバと比較して、SiN/ネガレジスト観測チャンバではX線による背景輝度の分布が小さく、バックグラウンドノイズが低いことが明らかになった。金ナノ結晶からの回折点を観測するにはバックグラウンドノイズが低ければ低いほどよい。本開発により従来チャンバでは観測・追跡が困難であった輝度の低い回折点の観測・追跡が可能になりデータ収集効率の向上が期待される。

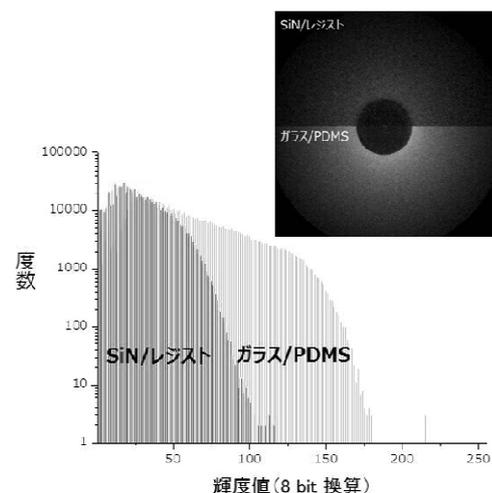


Fig. 1 Comparison of Background noise

4. その他・特記事項(Others)

本研究の一部は、科研費・挑戦的萌芽研究(課題番号:25670107)の助成を受けたものである。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

- (1) 平井義和 他2名, “X線1分子動態計測法で用いる低ノイズ観測チャンバの開発”, 化学とマイクロ・ナノシステム学会第30回研究会, 2014年10月3日.
- (2) H. Shimizu et al., “The diffracted X-ray tracking method for recording the single-molecule conformational changes of the KcsA potassium

channel in a sub-millisecond time resolution”,
The 45th Natl Inst Physiol Sci (NIPS)
International Symposium, Okazaki, Japan
(November, 2014).

6. 関連特許(Patent)

なし。