

課題番号 : F-15-KT-0152
利用形態 : 技術補助
利用課題名(日本語) : 細胞内物質導入の基礎研究
Program Title (English) : A basic study on introducing extracellular substances into cell
利用者名(日本語) : 横川 隆司
Username (English) : R. Yokokawa
所属名(日本語) : 京都大学大学院工学研究科
Affiliation (English) : Kyoto University

1. 概要(Summary)

細胞内の物質輸送や有糸分裂において、モータタンパク質であるキネシンやダイニンが複数寄与していることが知られている。しかし、*in vivo* では非常に多くのモータタンパク質と微小管が運動に関わっておりそのまま特性を評価することは困難である。そこで、複数のモータタンパク質による運動を *in vitro* で基板上に再構築することでその運動評価をおこなうことが、本研究の目的である。ここでは、キネシンを配置するためのナノピラーアレイの製作をおこない、キネシン分子の間隔を制御する手法を検討した。特に、A15 大面積超高精度電子線描画装置の使用においては複数枚のガラス基板に同時描画するためのアジャスタを製作していただき、デバイス作製のスループット改善を図った。

2. 実験(Experimental)

・利用した主な装置

A1 高速高精度電子ビーム描画装置
A15 大面積超高精度電子線描画装置
B26 ナノインプリントシステム

・実験方法

硼珪酸ガラスあるいは Si 基板上に電子線レジストを塗布し、電子線描画装置により直径 100 nm 程度、間隔 300-500 nm のナノピラーパターンを描画した。従来、A1 高速高精度電子ビーム描画装置では一日に数枚しか描画することができなかったが、A15 大面積超高精度電子線描画装置を利用することで 1-2 時間で同数の基板を描画することができるようになった。バイオアッセイにおいては、毎回新しい基板を必要とするためこのようにデバイス作製のスループットが改善することは研究の推進に大きく貢献する。

この金のピラー構造を作製した基板を用いてフローセ

ルを作製して、タンパク質の固定、アッセイ実験をおこなった。Self-Assembled Monolayer (SAM)を用いて金にはキネシン分子を特異的に付加するためのビオチンを導入し、シリコン基板には Polyethylene glycol (PEG)によってタンパク質の非特異吸着を防止した。その後、微小管を導入してキネシン分子の間隔を測定した。

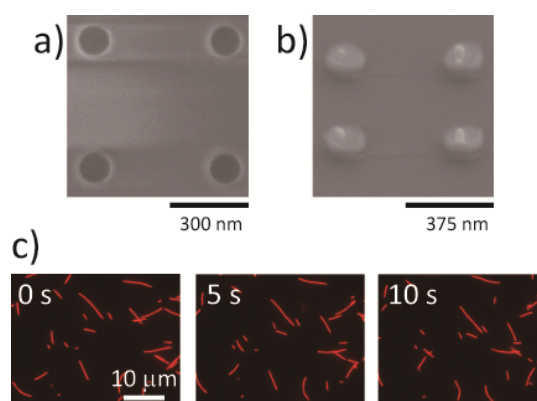


Fig.1 SEM images of a) EB resist pattern and b) Au nanopillars. b) Microtubules driven by kinesin motors.

3. 結果と考察(Results and Discussion)

Fig.1a に作製したレジスト構造, Fig. 1b に金のピラー構造の SEM 写真を示す。設計値は直径 100 nm, 間隔 500 nm であったが、実測値で直径 103 nm, 間隔 501 nm となった。この基板を用いて微小管の運動アッセイをおこなった様子を Fig. 2 に示す。その結果、キネシンの分子間隔は 431-473 nm と測定できた。よって、ピラー上に設計通り分子を固定することができた。

4. その他・特記事項(Others)

特になし。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

(1) Taikopaul Kaneko, Fumie Oda, Takahide Kon,

and Ryuji Yokokawa, “Individual kinesin immobilization on microfabricated nano-pillar arrays”, The 53rd Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan.

6. 関連特許 (Patent)

なし。