

課題番号 : F-19-KT-0132
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : DNA カーテン法を用いて DNA 上のタンパク質の動態を明らかにする(1)
Program Title(English) : Observation of protein dynamics on DNA using DNA curtain assay (1)
利用者名(日本語) : 寺川剛
Username(English) : T. Terakawa
所属名(日本語) : 京都大学大学院理学研究科
Affiliation(English) : Graduate School of Science, Kyoto University
キーワード/Keyword : リソグラフィ・露光・描画装置、スライドガラス、クロム

1. 概要(Summary)

DNA カーテン法では、ガラススライド上にナノテクノロジーを用いてパターンを描画しておき、脂質2重膜上に結合した DNA を、溶液流を用いてそのパターンに押し付けることによって、DNA をパターンに固定する。DNA を固定した後、そこにタンパク質を注入することで DNA とタンパク質を結合させ、タンパク質の DNA 上における動態を蛍光顕微鏡観察する [1]。この手法を用いると、DNA 分子やそれに結合したタンパク質分子を一度の実験で大量に観察することができる。その点において、この方法は、従来の一分子観察法に比べて優れている。ナノテクノロジーハブ拠点では、DNA カーテン法のためのデバイスを作成するために、ガラススライドの洗浄、レジスタのスピコーティング、高速電子線描画、現像、クロムの電子線蒸着、レジスタのリフトオフを行い、ガラススライド上にパターンを描画する。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

ウエハスピン洗浄装置、高速高精度電子ビーム描画装置、厚膜フォトレジスト用スピコーティング装置、電子線蒸着装置

【実験方法】

まず、ウエハスピン洗浄装置を用いてガラススライドを洗浄した。次に、厚膜フォトレジスト用スピコーティング装置を HMDS を塗布した。さらに、スピコーターを用いて PMGI-SF5S、ZEP-520A、エスパーサーを塗布した。そして、高速高精度電子ビーム描画装置を用いてパターンの描画を行った。その後、ドラフトチャンバーにおいて現像・エッチングを行い、電子線蒸着装置を用いてクロムを蒸着した。最後に、ドラフトチャンバーにおいてリフトオ

フを行い、ガラススライド上にパターンを描画した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

ガラススライド上に描画したナノパターンに DNA を張り、DNA カーテンを蛍光顕微鏡観察することができた (Fig. 1 upper)。DNA の両端を固定した DNA カーテンも作成し、蛍光顕微鏡観察することができた (Fig. 1 down)。

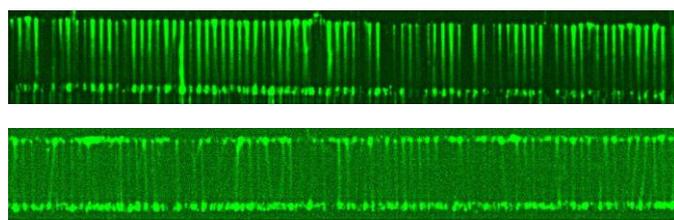


Fig. 1 DNA curtain.

4. その他・特記事項(Others)

・参考文献

[1] EC Greene et al., Methods Enzymol 472, (2010) 293-315

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

寺川 剛 「DNA curtains: high-throughput single molecule imaging for DNA transactions」 第 57 回日本生物物理学会年会 (学会発表)

寺川 剛 「Single-molecule observation of chromatin condensation induced by Condensin molecular motor」 第 42 回日本分子生物学会年会 (学会発表)

6. 関連特許(Patent)

なし