

課題番号 : F-19-WS-0019
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : decoy サイトが GFP 振動発現遺伝子回路に与える影響
Program Title (English) : The effect of decoy site on synthetic gene circuit of GFP oscillatory expression
利用者名(日本語) : 池田大悟, 西田暁史
Username (English) : D. Ikeda, A. Nishida
所属名(日本語) : 早稲田大学先進理工学部
Affiliation (English) : School of Advance Science and Engineering, Waseda University
キーワード/Keyword : リソグラフィ・露光・描画装置, マイクロ流体デバイス, 形状・形態観察、分析

1. 概要(Summary)

人工遺伝子回路の挙動に関するシミュレーションと生物実験結果を一致させることは合成生物学の目標の一つであり、よりもっともらしい比較のためには、1細胞ごとの観察・定量が重要である。本研究では、大腸菌が1細胞のみ収容され、経時観察の可能なマイクロ流体デバイスを作製した。マイクロ流体デバイスの作製において、早稲田大学ナノテクノロジー研究センター(NTRC)の実験施設を利用した。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

- ・両面マスクアライナ
- ・表面極微細構造測定装置(テンコール)
- ・簡易 SEM(キーエンス)
- ・ダイシングソー

【実験方法】

UVリソグラフィを用いて、くし形マイクロ流体デバイスの鋳型を作製した(Fig. 1)。6 inch シリコン基板を45 mm × 55 mm にカットした。ネガティブ型フォトリソグロームであるSU-8をスピコートによりコーティングし、2重露光を経て鋳型を作製した。

次に、鋳型からデバイスを作製した(Fig. 2)。鋳型にPDMS樹脂を流し込み、75°Cで1時間焼き上げた。流入口、流出口のための穴を開け、デバイスとスライドガラスをプラズマ接着した。

大腸菌が収容される chamber と呼ばれる空間を設計通りに作製するために、アラインメントギャップ(1 / 2 / 5 / 10 μm)、UV 露光時間(2 / 5 秒)、スピコート回転数(3000 / 4000 / 5000 rpm)について、鋳型の chamber 幅を計測することで条件検討を行った。

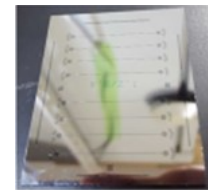


Fig. 1 Microfluidic device mold.



Fig. 2 Microfluidic device and chamber dimensions.

3. 結果と考察(Results and Discussion)

アラインメントギャップ、UV 露光時間、スピコート回転数の条件検討をした結果、アラインメントギャップを2 μm、UV 露光時間を2秒、スピコート回転数を3000rpmとしたときに、最も設計の寸法に近い鋳型が得られることが分かった。この条件の鋳型からデバイスを作製したところ、大腸菌が一列に収容されることが確認された(Fig. 3)。



Fig. 3 Escherichia coli housed in the device.

4. その他・特記事項(Others)

- ・用語の説明

decoy サイト : 遺伝子の転写制御が生じない、転写制御因子結合 DNA 領域。

GFP 振動発現遺伝子回路：誘導剤濃度で転写制御を調節可能な AraC、LacI タンパク質の転写が制御された結果、GFP が発現する時間周期を誘導剤濃度で調節可能なタンパク質発現システム。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

なし。

6. 関連特許(Patent)

なし。