

課題番号 : F-20-KT-0065
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
Program Title (English) : Observation of protein dynamics on DNA using DNA curtain assay
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、バイオ&ライフサイエンス

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]。これにより、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、レジスト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。

DNA カーテン法において、DNA の両端を固定するパターン間の距離が、DNA にかかる張力を決める。DNA の張力が DNA 上のタンパク質のダイナミクスに与える影響を調べるために、パターン間の距離を 9、10、11、12、13 μm と変化させてパターンを描画した。

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、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、厚膜フォトリソ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)

DNA の両端を固定するパターン間の距離を変化させて、Fig. 1 に示す様に 5 種類(9、10、11、12、13 μm) のパターンを描画することができた(数字は距離と DNA にかかる張力)。

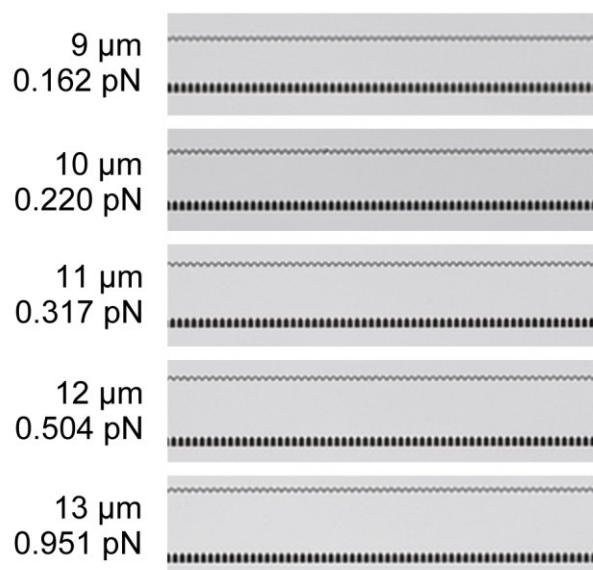


Fig. 1 Drawing patterns by EB Lithography.

4. その他・特記事項(Others)

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

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

なし

6. 関連特許(Patent) なし