

課題番号 : F-20-UT-0006
 利用形態 : 機器利用
 利用課題名(日本語) : 一分子検出に基づく DNA 消化酵素評価法
 Program Title (English) : A single-molecule counting approach for restriction digest efficiency measurement
 利用者名(日本語) : 張翼, 黒澤佳奈子
 Username (English) : Yi Zhang, Kanako Kurosawa
 所属名(日本語) : 国立研究開発法人海洋研究開発機構
 Affiliation (English) : Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology (JAMSTEC)
 キーワード/Keyword : リソグラフィ・露光・描画装置, 膜加工・エッチング, バイオ&ライフサイエンス

1. 概要(Summary)

本研究は、前年度に武田先端知ビルのスーパークリーンルームで開発したフェムトリッター・リアクター・マイクロデバイスを、DNA 一分子直接検出に応用し、世界最高感度の DNA 消化酵素評価方法を開発した。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

光リソグラフィ装置 MA-6、汎用平行平板 RIE 装置 (RIE-10NR)、クリーンドラフト潤沢超純水付、形状・膜厚・電気特性評価装置群(レーザー顕微鏡オリンパス LEXT OLS5000 など)、SEM (TM-3030Plus)

【実験方法】

ガラス基板上に疎水性ポリマー樹脂とフォトレジストを順次コート・ベークして、レジストを露光・現像し、そのレジストマスクを利用してポリマー樹脂をエッチングし、最後にレジストを除去する(Fig. 1)。出来具合をレーザー顕微鏡や電子顕微鏡で評価する。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

武田クリーンルームの整備や装置引越しが相次いだ一年だったが、加工条件を前年度に引き続き再最適化した。レーザー顕微鏡や電子顕微鏡による形状測定結果からして、本デバイスの微細加工が成功した。

Figure 1 にフェムトリッター・リアクター・マイクロデバイスの作製工程(a から f)を示す。

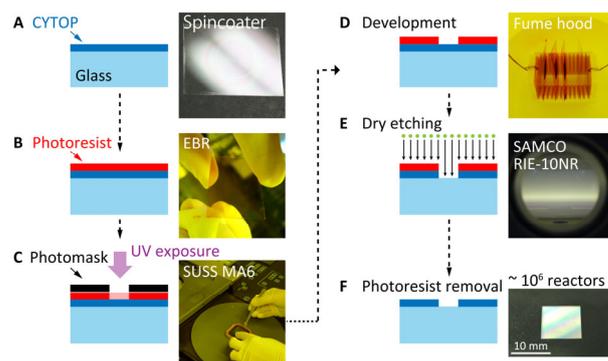


Fig. 1. Microfabrication process of the ultrahigh-density femtoliter reactor array substrate. (A) Spin-coating of the perfluoropolymer CYTOP on a silanized glass substrate. (B) Spin-coating of photoresist on the CYTOP-coated substrate. (C) Exposure of the coated photoresist using a mask aligner. (D) Development of the exposed photoresist in a developer. (E) Reactive-ion etching of CYTOP. (F) Removal of the photoresist mask.

4. その他・特記事項(Others)

コロナ禍の中、学外ユーザーとして、三田先生と落合先生からご協力をいただいたこと、感謝申し上げます。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

(1) Yi Zhang et al., A single-molecule counting approach for convenient and ultrasensitive measurement of restriction digest efficiencies. PLOS ONE, 2020, 15(12): e0244464.

6. 関連特許(Patent)

張翼, 布浦拓郎: 核酸分解酵素の核酸分解効率を求める方法(特許出願済み)