16a-C6-9

マイクロヒーティングによるナノ流路内 DNA の熱変性

Denaturation of DNAs in a nanofluidic channel by micro-heating method

阪大産研　°古橋 匡幸，大城 敬人，龍崎 奏，横田 一道，筒井　真楠、谷口 正輝，川合 知二

ISIR-SANKEN Osaka Univ.,　°Masayuki Furuhashi, Takahito Ohshiro, Soh Ryuzaki, Kazumichi Yokota, Makusu Tsutsui, Masateru Taniguchi, Tomoji Kawai

E-mail: furu@sanken.osaka-u.ac.jp

【序】次世代の DNA シーケンス法として、トンネル電流によって塩基分子を識別する方法が大きな注目を浴びている[1,2]。トンネル電流の大きさは、分子の大きさと電子状態に依存しており、塩基対状態では各分子を識別することはできないため、一本鎖にあらかじめ変性させたものを導入する必要がある。一方で、一本鎖の状態は不安定であり、時間が経つにつれて徐々に二本鎖に戻ってしまう。以上のことから、シーケンサーの直近において DNA を変性することが望ましい。本研究では、ナノ流路と埋め込みマイクロヒーターを集積したデバイスを試作し、DNA の熱変性に対する性能を評価するとともに、流路内での DNA の挙動についても調査を行う。

【実験】集積デバイスの基板にはカバーグラスを用い、Pt 製マイクロヒーターを作製した後に SiO_2 膜を堆積し、その上にナノ流路を構築した。Pt ヒーターの形成には、電子ビームリソグラフィ法とスパッタを用いた。上記ヒーターの上に CVD 法を用いて、SiO_2 膜を製膜した。電子ビームリソグラフィ法を用いてパターンを描画した後に、反応性イオンエッチングにより SiO_2 膜を処理することで、深さ 500 nm のナノ流路を作製した。ジメチルポリシロキサン(PDMS)でシールしたデバイスに、変性すると蛍光を発する DNA 溶液を流しながら、蛍光像の変化を全反射蛍光顕微鏡にて観察した。

【結果】図 1 に試作したマイクロヒーターとナノ流路の光学顕微鏡写真を示す。ナノ流路の幅は 25 μm であり、PDMS が流路の底に接着されるのを防ぐためにピラーが配置されている。ヒーターはナノ流路の底から 400 nm 下に埋め込まれている。ヒーターのサイズは約 20 × 20 μm で、線幅は 1 μm である。上記流路に DNA 溶液を流し、加熱を行いながら取得した蛍光強度の変化を図 2 に示す。ヒーター上では蛍光強度の変化はほとんど見られないが、流路内では大きく蛍光強度が増大している。これは、ヒーター加熱により流路内の二本鎖 DNA が変性し、一本鎖化されたことを示している。

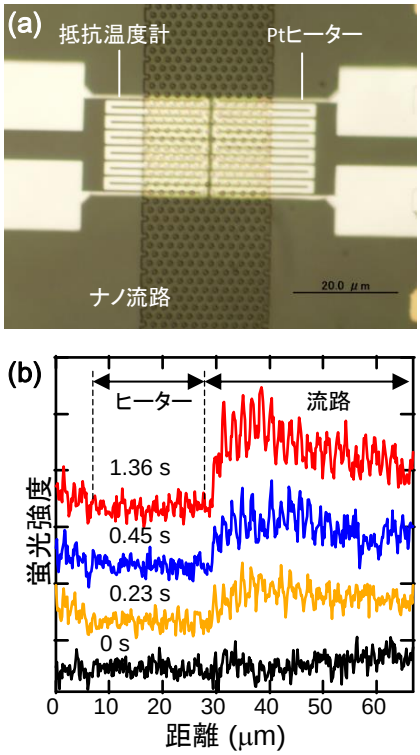

図 1 (a)作製したナノ流路と埋め込み Pt ヒーターの光学顕微鏡写真。(b) 蛍光強度の時間変化。

[1] M. Tsutsui, M. Taniguchi, K. Yokota, and T. Kawai, Nat. Nanotechnol. **5**, 286 (2010).

[2] T. Ohshiro, K. Matsubara, M. Tsutsui, M. Furuhashi, M. Taniguchi, and T. Kawai, Sci. Rep. **2** (2012).

© 2013 年　応用物理学会