

大規模スクリーニングチップ用アミノ基修飾基板作製条件の検討 Preparation of amino-functionalized glass surfaces for large-scale screening chip

JST-CREST¹⁾, 東大院工²⁾

○倉持 宏実¹⁾, 小野 愛子²⁾, スバシニ ラジクマール²⁾, 上野 真吾^{1,2)}, 一木 隆範^{1,2)}

JST-CREST¹⁾, Sch. Eng. Univ. of Tokyo²⁾

○Hiromi Kuramochi¹⁾, Aiko Ono²⁾, Subhashini Raj Kumal²⁾, Shingo Ueno^{1,2)}, Takanori Ichiki^{1,2)}

E-mail: kuramochi.hiromi@bionano.t.u-tokyo.ac.jp

【緒言】生物の進化過程で起きる遺伝子の突然変異や淘汰を人為的に制御する進化分子工学が進展している。我々は進化サイクルの高速化を目指し、ナノテクノロジーを利用して分子改変システムの構築を進めてきた。例えば、チップ上に 1 億個の微小リアクターを集積したバイオデバイスを用いれば、自然よりはるかに高速で進化を検証できる。進化検証の精度と再現性が高いバイオデバイスを実現するには、大面積に亘って均一に生体分子を固定できる基板が必要とされる。

【実験および結果】シランカップリング剤水溶液系で表面を修飾する場合、APTES は加水分解されてシラノールとなり、部分的に縮合したオリゴマーとして基板表面に水素結合で吸着する。その後、脱水縮合反応して共有結合を形成し、表面に固定される[1]。シランカップリング剤の加水分解と縮合反応の速度は溶液条件に大きく左右されることが知られており[2]、pH や温度などの作製条件を選ぶことにより、表面状態をコントロールできる。そこで、様々な条件下でガラス基板を 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES) に反応させ、原子間力顕微鏡(AFM)とアミノ基反応性蛍光試薬を用いて、それぞれの表面アミノ基の分布と活性を比較した。pH10 で作製した表面には凝集物が見られ(Fig. 1)、この反応条件下では加水分解よりもシラノールの縮合反応が早く進み、ガラス基板全体をアミノ基で覆えないことを示唆している。活性なアミノ基の量は pH4 の作製条件の方が多く、凝集すると活性が下がると考えられる (Fig. 2)。更に thiol-DNA-Cy5 及び DNA-Cy5 を NHS-マレイミドを介して反応させ、蛍光測定で固定化量を評価することにより、非特異吸着が少なく、基板全体で均一な DNA アレイを実現できるアミノ基修飾表面の作製条件を検討した。

[1] for example, N. Nishiyama, K. Horie and T. Asakura, J. Appl. Polym. Sci. 34, 1619 (1987).

[2] for example, P. Trens, R. Denoyel and J. Rouquerol, Langmuir 11, 551 (1995).

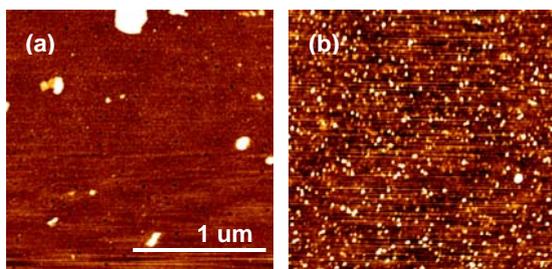


Fig.1 AFM images of APTES treated glass surfaces with different hydrogen-ion exponent during modification. (a) pH=10, (b) pH=4.

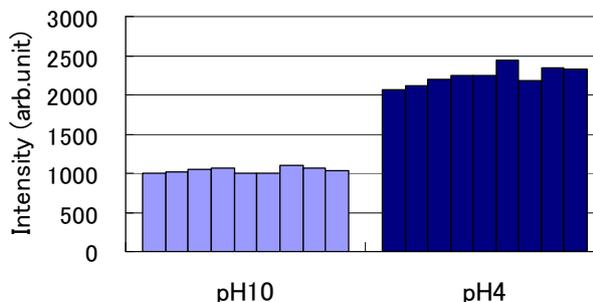


Fig.2 Fluorescence intensity of reacted NHS-fluorescein