

マイクロヒーターを用いた二本鎖 DNA の熱変性

Denaturation of double-stranded DNAs by a 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】微細加工技術により作製したナノギャップ電極デバイスを用いることで、DNA 塩基分子をトンネル電流で識別することが可能になった[1,2]。このデバイスは低コストで高速な DNA シーケンスを可能にするが、予め DNA を一本鎖にしておく必要がある。この DNA の一本鎖化（変性）とシーケンスを同一デバイス上で行うことで、更なる装置の小型化とシーケンスの自動化が望める。本研究では、チップ上で DNA を熱変性させるためのマイクロヒーターを試作し、その性能と熱伝わりを調査すると共に、マイクロヒーターによる DNA 熱変性を実証する。

【実験】マイクロヒーターはカバーガラス上に微細加工技術を用いて作製した。最初に、光リソグラフィとスパッタを用いて、外部引出用の Au 電極を配線した。次に電子線リソグラフィとスパッタにより、Pt ヒーターを作製した。上記 Au 電極及び Pt ヒーター上に電気絶縁層として 200 nm 厚のシリコン酸化膜をスパッタにより堆積した。同一基板上に複数のマイクロヒーターを作製し、電圧を印加していないヒーターを Pt 抵抗温度計として用いることで、基板上での熱伝わりを調査した。さらに、ヒーター上に水溶液を滴下した場合の熱伝わりを調査すると共に、水溶液の挙動を蛍光顕微鏡下で観測した。

【結果】図 1 に試作したマイクロヒーターの電子顕微鏡像を示す。ヒーターの線幅及び空隙幅はそれぞれ 1 μm 、500 nm であり、全体の大きさは約 20 $\times$ 20 μm である。このヒーターに電圧を 20 s 間印加した場合に、隣接する温度計の場所における温度の時間変化を図 2 に示す。印加直後に温度が急速に上昇し、その後は緩やかに単調増加している。電圧印加 1 s 後と 20 s 後における温度の差は僅か数 $^{\circ}\text{C}$ であり、このマイクロヒーターを用いることで高速かつ高精度な温度制御ができることが判明した。次に、マイクロヒーター上に純水を滴下して温度変化を調べたところ、20 s 後の到達温度が大幅に下がることから、熱伝わりを効率的に抑えられることが分かった。さらに、蛍光分子により標識した DNA 溶液を滴下してヒーターを加熱したところ、ヒーター周囲のみで DNA が変性することが明らかになった。

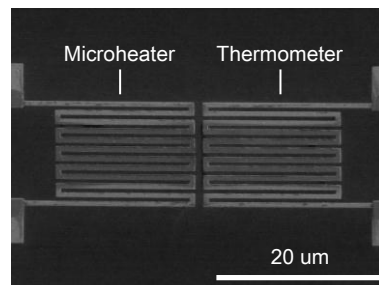


図 1 作製したマイクロヒーターの電子顕微鏡像。片側を加熱用ヒーター、もう片側を温度計として使用する。

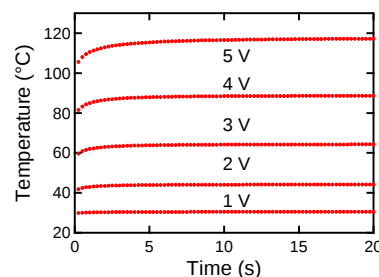


図 2 ヒーターへの種々の電圧印加による温度の時間変化。

[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).