

論文題目 : Flow-Through-Type DNA Array Based on Ideally Ordered Anodic Porous Alumina Substrate

論文概要 : 近年、多孔質基板 (細孔径 $5\mu\text{m}\sim 2\text{mm}$) の細孔内壁にプローブ DNA を固定化し、ターゲット DNA 溶液を細孔内に流すことによりプローブ DNA とターゲット DNA の反応効率を増加させることを目的とする三次元 DNA アレイが報告されるようになってきている³⁾。このような三次元型の DNA アレイの作製に用いられているポーラス膜は、細孔径がまちまちであり、細孔の直進性が良くないことから、高密度 DNA アレイを作製する場合、各スポットにおいて固定されるプローブ DNA の量が一定でなく、蛍光シグナルが細孔内を進行するに従い、曲がった

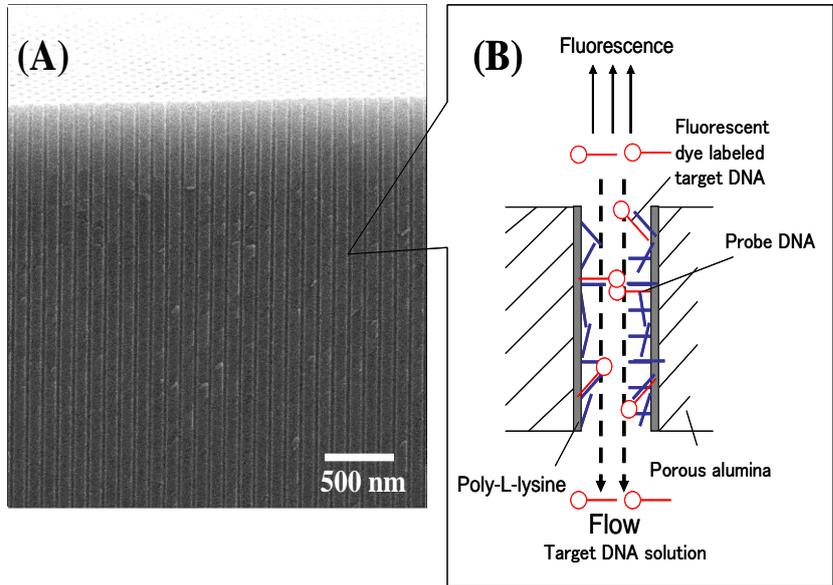


図1 500 nm 細孔周期ポーラスアルミナの SEM 像 (A) 及び三次元型 DNA アレイの模式図 (B)

た細孔内で減衰してしまうことから、高密度化においては、定

量性に問題を残していた。我々は、ポーラスアルミナの内壁に DNA を固定化し、細孔内に蛍光色素標識したターゲット DNA 溶液を流し、細孔内でのハイブリダイゼーションの有無を直進性の良い細孔からの蛍光シグナルを検出することにより、従来に

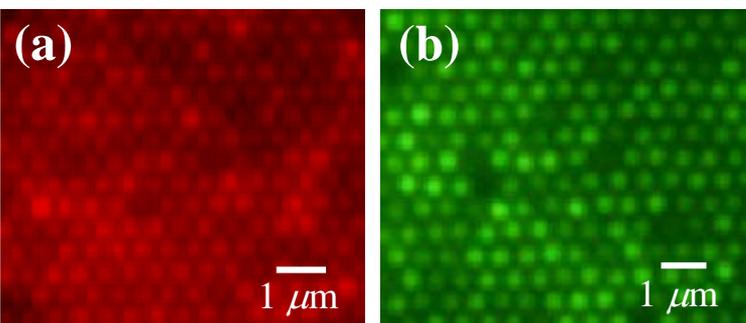


図2 相補的な DNA の組を用いて行ったハイブリダイゼーションによる各細孔からの蛍光観察結果. (a) 赤い蛍光を発生する蛍光マーカーを用いた場合、(b) 緑の蛍光マーカーで被覆し、ポリ-L-リシンと DNA の場合

静電的相互作用によりプローブを固

定することで作製した。相補的な塩基配列を持つ DNA の組を用いてハイブリダイゼーションを行った場合、各細孔からの蛍光輝点を観察することができ (図2)、一方、相補的な関係にない場合、蛍光輝点は観察されなかった。さらに、蛍光強度のハイブリダイゼーション時間依存性からハイブリダイゼーションが完了する時間がターゲット DNA 溶液を細孔内に循環させなかった時に比べて短縮できることを確認した。