

研究成果報告書

研究テーマ (和文)	光操作型ナノツールを用いた生体分子機械加工プラットフォームの創出		
研究テーマ (英文)	Creation of Mechanical Processing Platform for Single Biomolecules using Optically-Driven Nanotools		
研究期間	2018年 ~ 2020 年	研究機関名 香川大学	
研究代表者	氏名	(漢字)	寺尾 京平
		(カタカナ)	テラオ キョウヘイ
		(英文)	Kyohei Terao
	所属機関・職名	香川大学・准教授	
共同研究者 (1名をこえる場合は、別紙追加用紙へ)	氏名	(漢字)	
		(カタカナ)	
		(英文)	
	所属機関・職名		

概要 (600字~800字程度にまとめてください。)

本研究は生体分子1分子をターゲットにした極限的な機械加工技術の実現を目標とする。光駆動ナノマイクロ構造体による生体分子1分子の物理操作技術をベースに、ナノマイクロ構造体表面に様々な化学反応を触媒する酵素を固定することで、分子加工用の工具として実現することを目指す。本課題においては、提案原理を実証することを目指し、DNA分子1分子へのピンポイントな分子鎖切断に取り組んだ。

本研究期間において、DNA切断酵素を固定した光駆動マイクロ工具を開発し、マイクロ流体デバイス内で染色体DNA分子の顕微鏡下でのその場切断を実証した。光駆動マイクロ工具は光ピンセットで駆動し、位置・姿勢を顕微鏡下で調節できる。我々はマイクロ構造体の作製法を検討し、酵素を表面に固定化する手法の最適化を実施した。UVオゾン処理による官能基付与を基盤にした手法を開発し、高い固定化効率を示した。また、分子加工を行う加工テーブルとして、染色体DNA分子の配置と展開、光駆動マイクロ工具の収納、の機能を持ったマイクロ流体デバイスを新たに開発した。実証実験では、DNA切断酵素DNaseIとDNaseIIを用いて酵母染色体DNA分子のその場切断を達成するとともに、酵素間の工具としての性能比較を実施し、DNA分子カッターとして機能する酵素としてDNaseIが適切であることを明らかにした。

本研究で開発した、分子加工工具及び加工テーブルとしてのマイクロ流体デバイスによってこれまで熱拡散に依存していた酵素処理をピンポイントに行うことが可能となり、1分子1細胞の解析のための操作ツールとして広範な応用が期待される。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）						
雑誌	論文課題	On-site processing of single chromosomal DNA molecules using optically driven microtools				
	著者名	A. Masuda, H. Takao, F. Shimokawa, K. Terao	雑誌名	Scientific Reports		
	ページ	7961-1~9	発行年	2 0 2 1	巻号	11
雑誌	論文課題	Capture and elongation of single chromosomal DNA molecules using optically driven microchopsticks				
	著者名	R. Inukai, H. Takao, F. Shimokawa, K. Terao	雑誌名	Biomicrofluidics		
	ページ	044114-1~6	発行年	2 0 2 0	巻号	14
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	~	発行年		巻号	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	

英文抄録（100語～200語程度にまとめてください。）

We developed optically driven microtools for processing single biomolecules under an optical microscope. The optically driven microtools have enzymes immobilized on their surfaces, which catalyze chemical reactions for molecular processing in a confined space. Optical manipulation of the microtools enables them to be integrated with a microfluidic device for controlling the position, orientation, shape of the target sample. We evaluated the immobilization of enzymes on the surface of microtools, the microfluidics device, including its microtool storage and sample positioning functions, and the use of this system for on-site cutting of single chromosomal DNA molecules. We fabricated microtools by UV lithography with SU-8 and selected ozone treatments for immobilizing enzymes. The microfluidic device has tool-stock chambers for tool storage and micropillars to trap and extend single chromosomal DNA molecules. The DNA cutting enzymes DNaseI and DNaseII were immobilized on microtools that were manipulated using optical tweezers. The DNaseI tool shows reliable cutting for on-site processing. This pinpoint processing provides an approach for analyzing chromosomal DNA at the single-molecule level.