

専攻	総合エネルギー	学籍番号	871311	指導教官氏名	水野 彰 教授
申請者氏名	西岡 将輝		小崎 正光 教授		
					榊原 建樹 教授

## 論 文 要 旨

論文題目	静電力と光圧力を組み合わせた細胞及びDNA分子のマニピュレーション
------	-----------------------------------

(要旨 和文 1,200 字程度)

(1)

本論文は、レーザー光圧力と静電気力を組み合わせた、個々の細胞やDNA一分子など数 $\mu\text{m}$ 以下の微粒子を対象とする操作技法（光圧静電微小操作法）の開発およびその応用についての研究の成果である。この光圧静電微小操作法はバイオテクノロジーに応用できる重要な支援技術である。

光圧静電微小操作の細胞への適用例として、細菌の回転操作を行った。これは、フォトリソグラフィーで作製した6極の電極中心部にレーザートラッピングにより固定した細菌を静電配向により回転させるものである。このとき細菌の最高回転速度は電界強度や周波数さらには細胞の生死などの状態にも依存しており、最高回転速度を測定することで細胞の生死等の状態を推測することが可能となった。また回転原理について、細胞を誘電体膜に囲まれた電解質とモデル化し理論的な解析を行った

DNA分子は直径2nmと非常に小さいため現在のところマニピュレーション例の報告は少ない。本研究では操作に不可欠である顕微鏡下でのDNA分子の可視化条件の最適化を行った。また、従来まで不可能であったDNA一分子のマニピュレーションを三種類の異なる方法

(1) 電界(1MHz,  $10^6\text{V/m}$ )中にレーザーを照射すると、焦点を中心に対称性のよい流れ場を形成することができ、

その流れ場を利用した輸送

(2) 凍結したDNA溶液にレーザービームを照射し局所領域を融解させ、融解領域に溶け出したDNA分子をレーザービームの走査に追従させた輸送

(3) DNA分子の末端に1 $\mu$ mのラテックス粒子を結合させた試料を用い、これをレーザートラッピングにより操作する

により実現した。さらに、これらDNA一分子の操作技法に紫外線レーザーを用いたDNA一分子の切断操作を加えることで、従来のDNA塩基配列決定法の高速化への応用を検討した。従来のDNA分子の塩基配列解析法では約600塩基の長さのDNA分子しか解析することができないため、長いDNA分子は酵素で切断し多数の短い断片を作成することで各断片の塩基配列を決定している。

しかし酵素で切断された各断片は順序の情報が失われており、全体の塩基配列の決定には各断片の順序の再編成が必要となる。その再編成には多大な時間・経費がかかるため、簡略化や再編成を必要としないDNA断片の作成技術の開発が望まれている。そこで本研究で新しく開発したDNA一分子のマニピュレーション法を応用することで、伸長固定したDNA一分子を端から順番に切断し、各断片を個別回収する一連の操作法を開発した。また、DNA切断法ならびに回収断片のPCR(polymerase chain reaction)増幅時の問題点を実験的に調べており、順序情報を維持したDNA断片を作製できる可能性を示した。この操作法により塩基配列決定の高速化が可能となる。