

インターナショナルトレーニングプログラム 長期派遣報告

派遣先： オランダ トゥエンテ大学
派遣期間：1月10日～3月21日(2カ月)

派遣者： 渡邊 均

目次

1. オランダ トゥエンテ大学
2. 研究室の様子
3. 研究室のタイムスケジュール
4. SiNWについて
5. Introduction
6. 選択的にプローブ分子を結合させる方法
7. 基板上への薄膜形成
8. アガロースゲル
9. 結果
10. ITPを通して得たもの

大学の場所

トゥエンテ大学：オランダ エンスヘーデ



日本からのフライト時間：11時間

空港からの電車での移動時間：2時間

エンスヘーデ駅からの移動時間：10分



大学の様子



オランダの特徴

一人当たりの自転車保有率ナンバー1
ヨーロッパでは、花の輸出国としても有名

エンスヘーデの特徴

人口は約15万人程度、20世紀初頭に綿織物として栄えた。F.C. Twenteというフットボールチームのホームタウンとなっている。

研究室の写真



コーヒールーム

AFM



実験室

Clean room



研究室のタイムスケジュール

月曜日

9:00 a.m.

大学へ

実験

10:30 – 11:00

休憩(コーヒータイム)

11:00 – 12:30

ミーティング

トピック

- ・ 論文紹介
- ・ 安全講習
- ・ データ論議など

12:30 – 13:30

昼食

実験

15:30 – 16:30

休憩(コーヒータイム)

実験

18:00

帰宅

金曜日

16:30からコーヒールームにて、小さなパーティーを毎週行っている。そのパーティーでは、各自の旅行の紹介(アメリカの個人旅行の話)、趣味の紹介(ボートの乗り方などのレクチャー)、ヨーロッパ中世の建築の知識などの紹介をプロジェクトを使って紹介していた。



Introduction

SiNW : Silicon NanoWire.

Application

pHを測定するためのセンサー、たんぱく質センサー¹、ガス分子センサー²、DNAセンサー³、ガンセンサー⁴、神経細胞などの検出⁵。

しかし SiNW 自体には、分析用の化学種(プローブ)を持っていない。

→ SiNWの表面に、適切な分子プローブを結合させなくてはならない。

SiNW自体にDNAなどを検出するためのプローブはついていない。
したがって、SiNW上に検出のためのプローブを結合することが重要となってくる。

(1) Cui, Y.; Wei, Q.; Park, H.; Lieber, C. M. *Science* **2001**, 293, 1289-1292.

(2) Zhou, X. T.; Hu, J. Q.; Li, C. P.; Ma, D. D.; Lee, C. S.; Lee, S. T. *Chem. Phys. Lett.* **2003**, 369, 220-224.

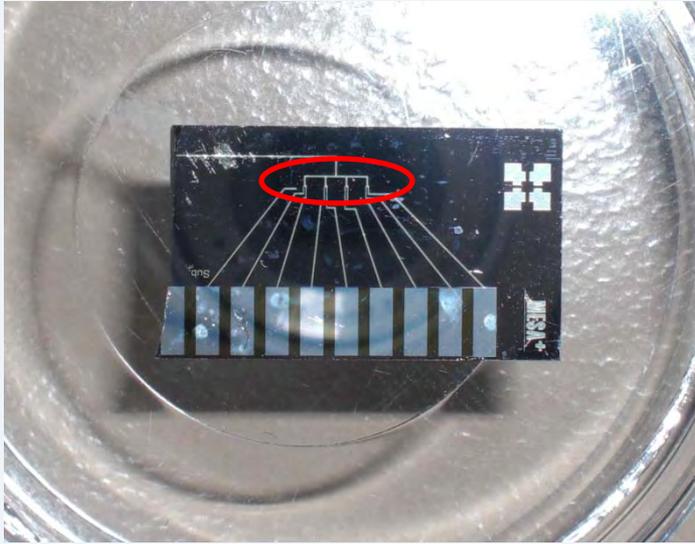
(3) Li, Z.; Chen, Y.; Li, X.; Kamins, T. I.; Nauka, K.; Williams, R. S. *Nano. Lett.* **2004**, 4, 245-247.

(4) Zheng, G.; Patolsky, F.; Cui, Y.; Wang, W. U.; Lieber, C. M. *Nat. Biotechnol.* **2005**, 23, 1294-1301.

(5) Patolsky, F.; Timko, B. P.; Yu, G.; Fang, Y.; Greytak, A. B.; Zheng, G.; Lieber, C. M. *Science* **2006**, 313, 1100-1104.

Introduction

SiNWの様子

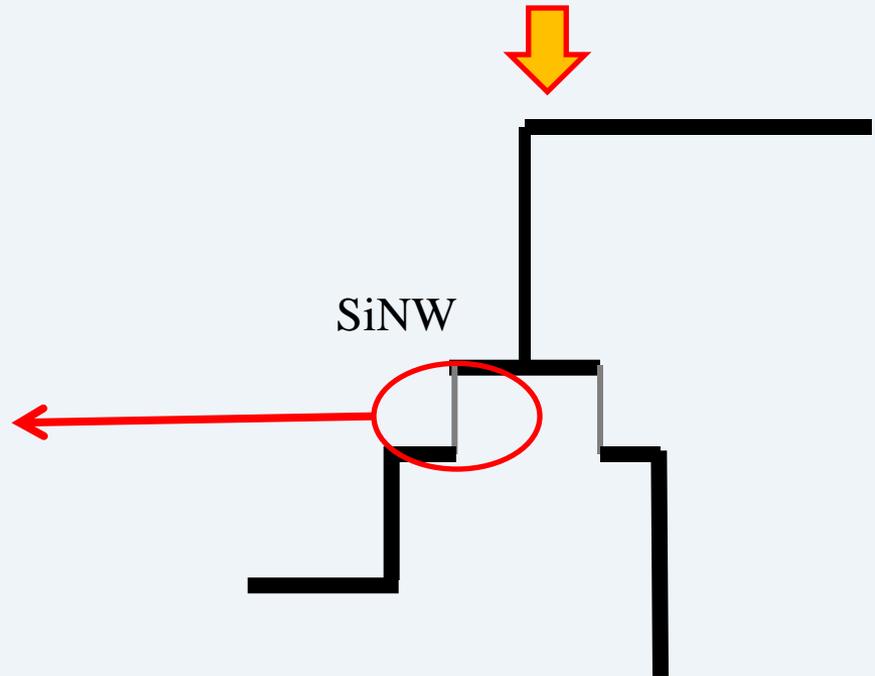
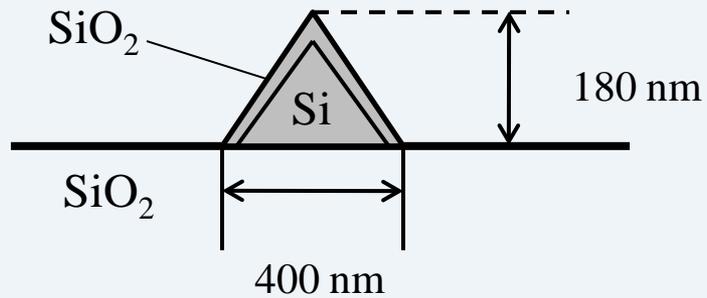


拡大



SiNWのイメージ図

断面図



Introduction

Application

pHを測定するためのセンサー、たんぱく質センサー¹、ガス分子センサー²、DNAセンサー³、ガン分子センサー⁴、神経細胞などの検出⁵。

しかし SiNW 自体には、分析用の化学種(プローブ)を持っていない。

→ SiNWの表面に、適切な分子プローブをつけなくてはならない。

問題点 !!

プローブ分子はどのSiNWの表面に結合をしてしまう。その結果、外部からのノイズとDNAの信号を分けることができない。

この問題を改善するために、よりシンプルな解決方法を考えたい。

1 μ m程度のタンパク質をある特定の場所のみに、結合させる工業的装置がある。

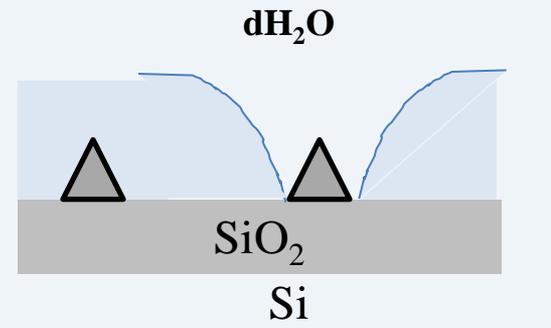
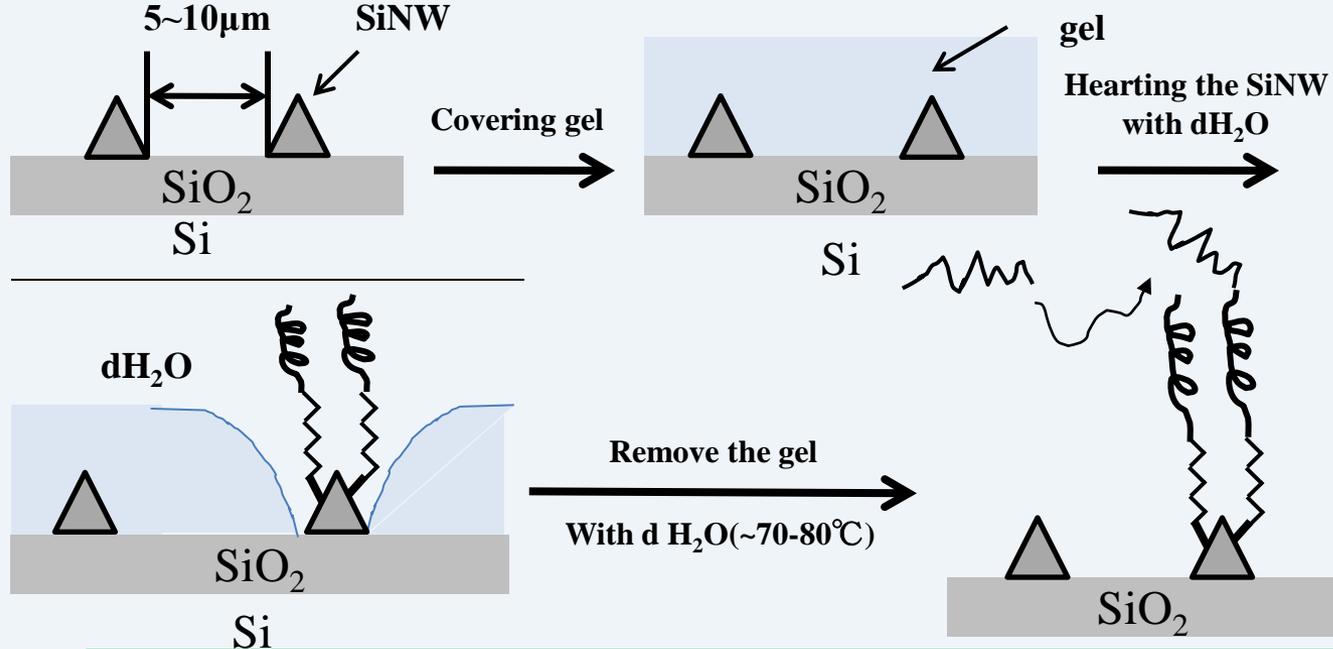
しかし、装置の価格が高額なことが問題とされている(~150-200k €) !!

Purpose

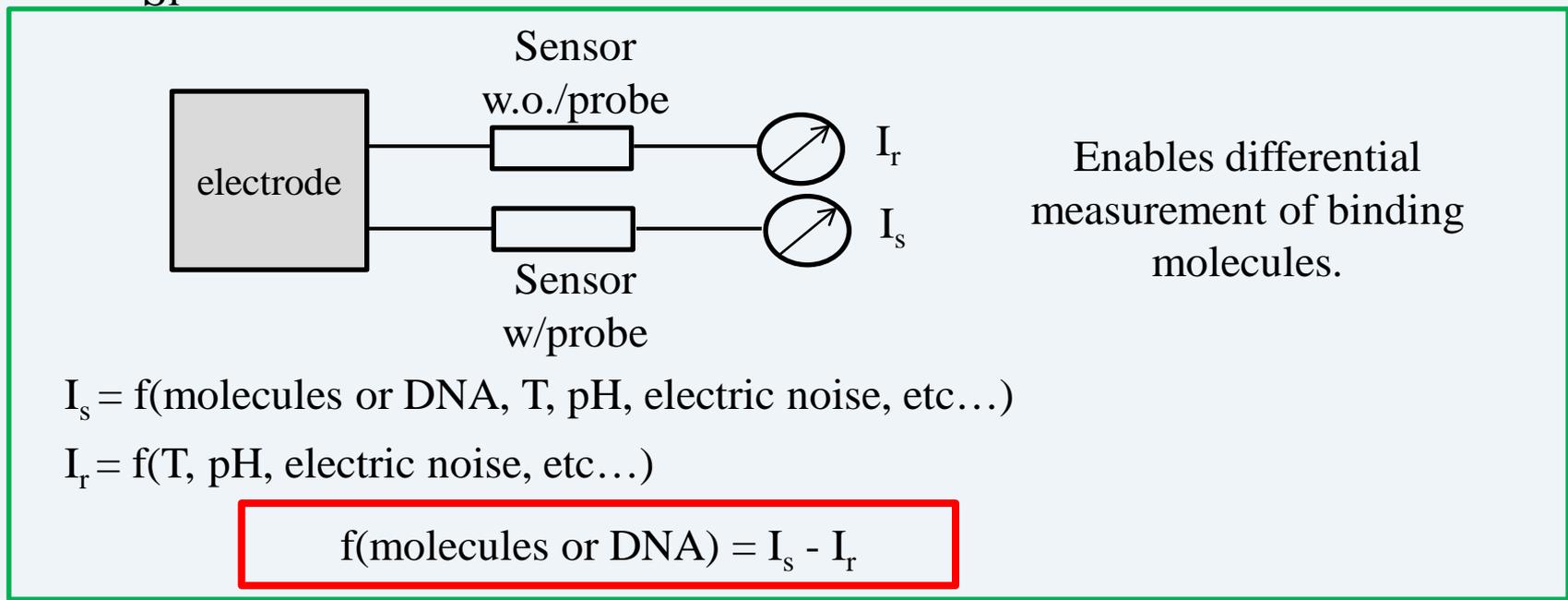
プローブ分子を選択的に結合させる簡易的な方法の確立

1. ゲルを使って、SiNW上に薄膜を形成
thin layer < 200 nm
2. 部分的にSiNWを加熱することで、ゲルを再度溶かす。

選択的にプローブ分子を結合させる方法

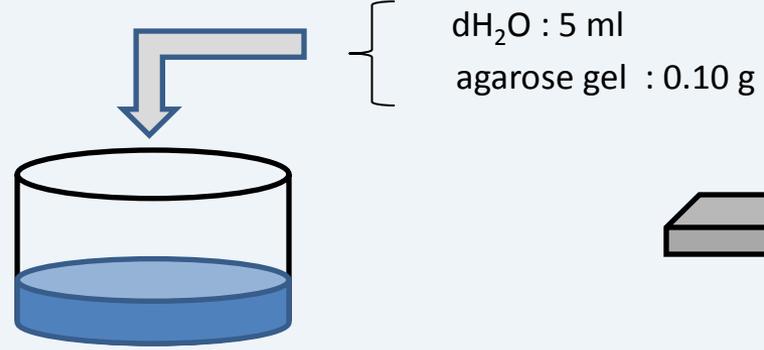


片方のSiNWはプローブ分子を持っているが、一方で、もう片方のSiNWはプローブ分子を持っていない。

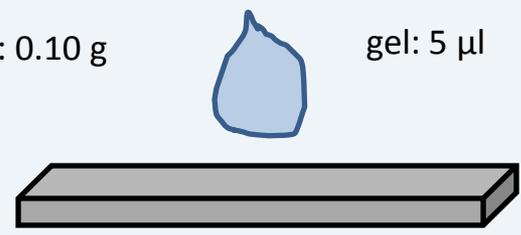


薄膜の作製方法

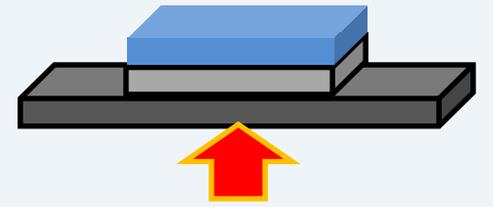
1st step Mixing agarose and dH₂O



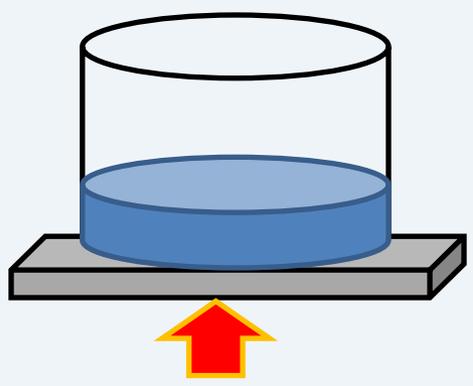
3rd step Pour the gel to the substrate



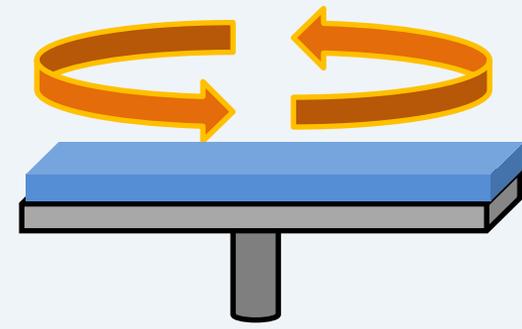
5th heating the substrate for 10min at 30 °C



2nd step Heating the mixed dH₂O at 80 °C



4th step Spin cast to make gel uniform



ゲルの膜厚を制御するために

- ゲルの温度
- 拡散スピード
- 拡散時間
- 回転速度
- 回転時間

必要条件:

ゲルの膜厚 < 200 nm

- ・アガロースゲルは電気泳動の際によく使用される。
- ・アガロースゲルは、薄膜を形成することが可能
- ・アガロースは70°C付近で、再度溶かすことができる。

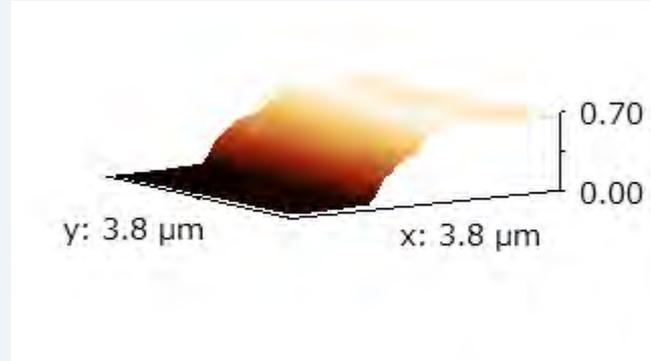
Results(on the SiO₂)

Spread speed : 5000 [rpm]

Spread times : 10 [s]

Spin speed : 10000 [rpm]

Spin times : 110 [s]



Results

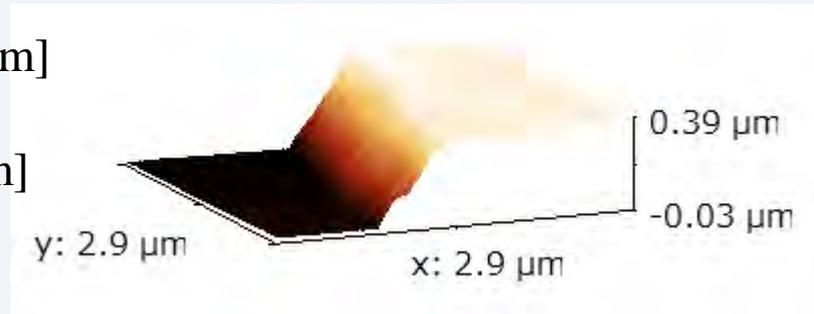
The height of gel : 700 nm

Spread speed : 6000 [rpm]

Spread times : 10 [s]

Spin speed : 10000 [rpm]

Spin times : 115 [s]



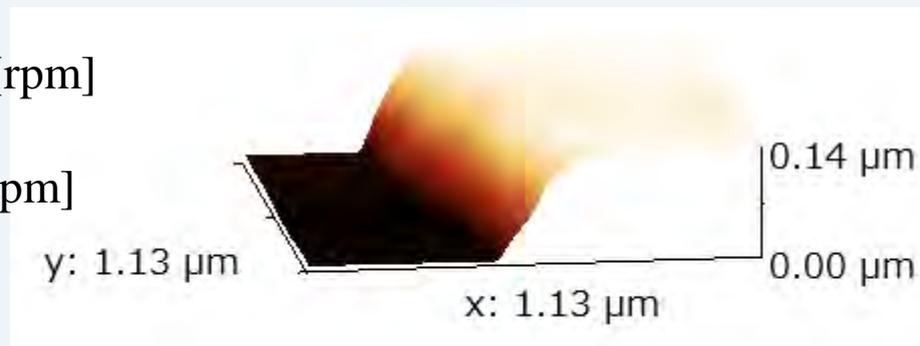
The height of gel : 370 nm

Spread speed : 7000 [rpm]

Spread times : 10 [s]

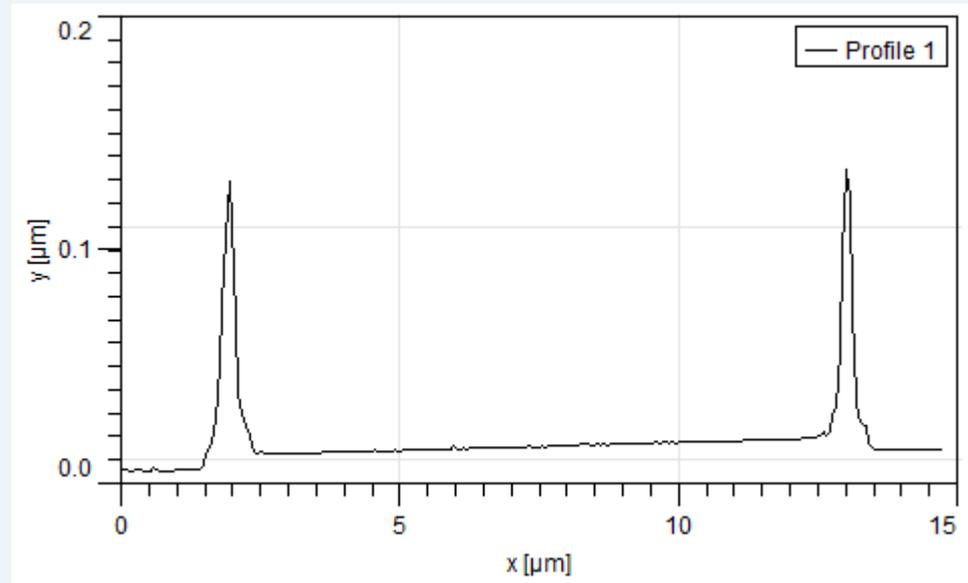
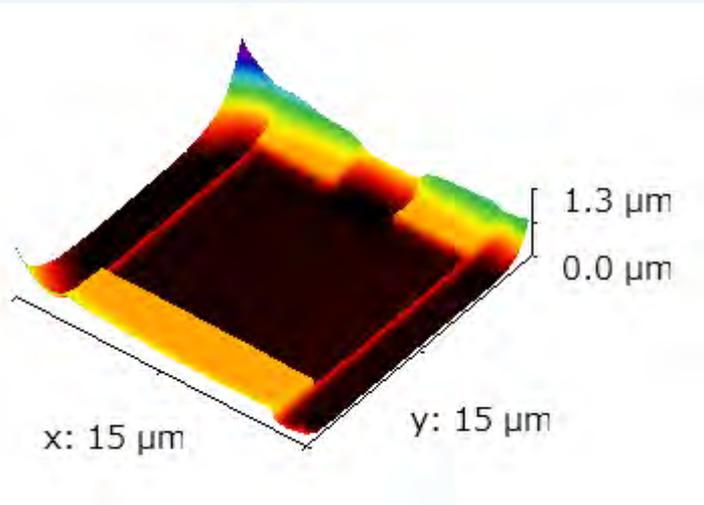
Spin speed : 10000 [rpm]

Spin times : 110 [s]

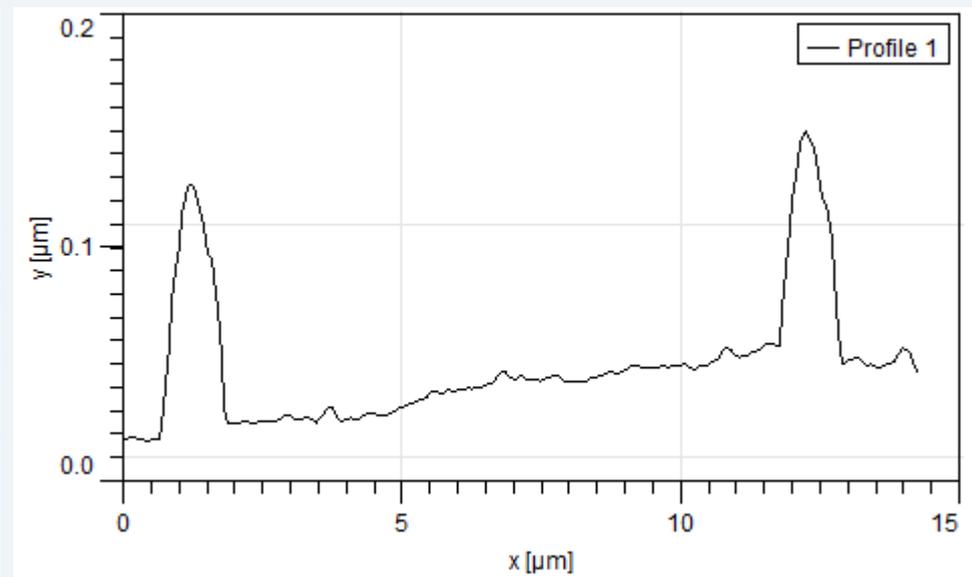
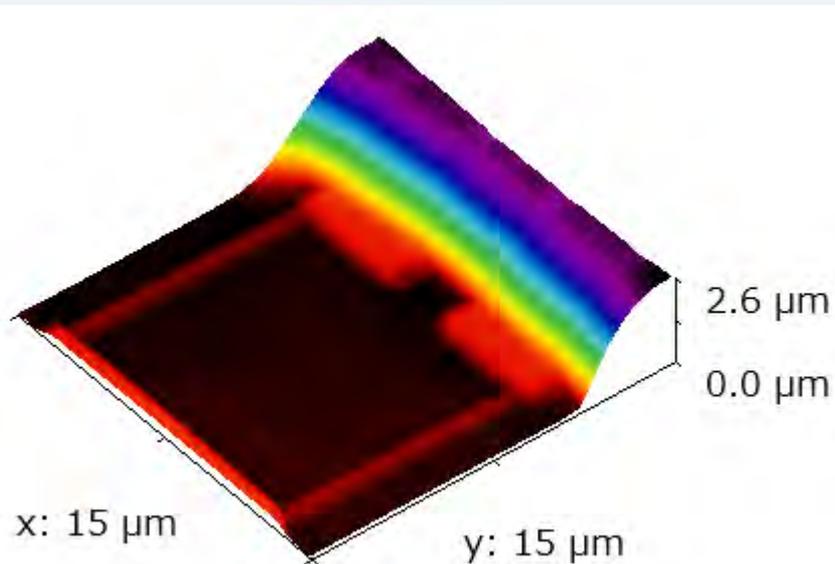


The height of gel : 120 nm

Before covering the gel

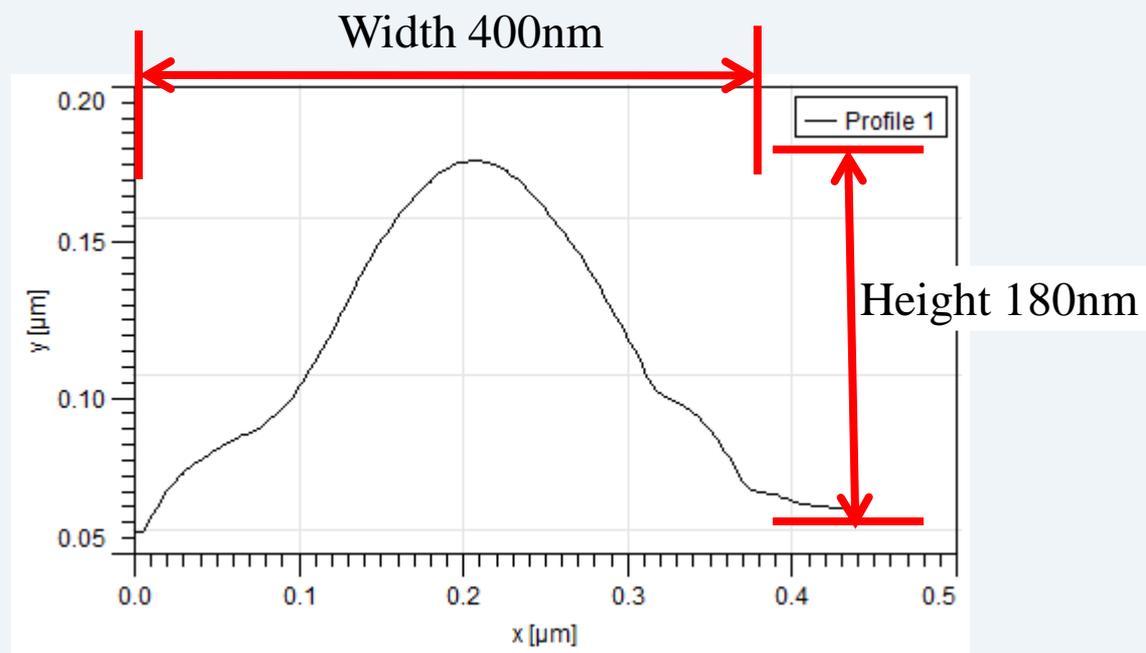
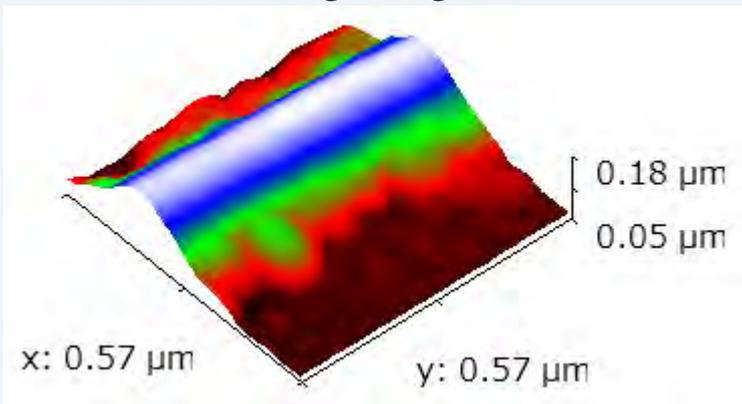


After covering the gel

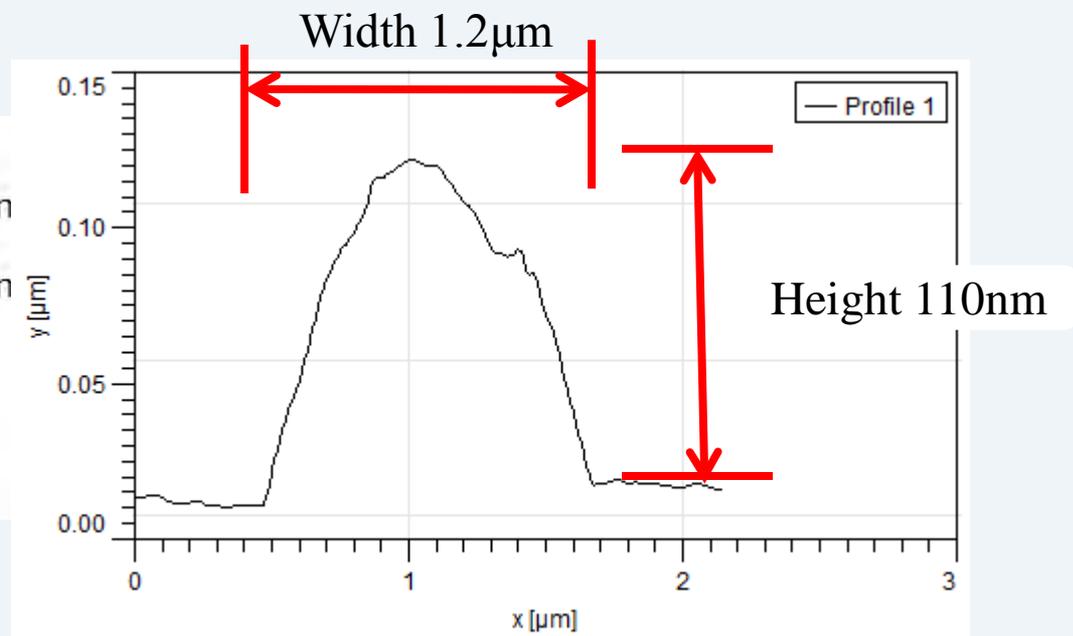
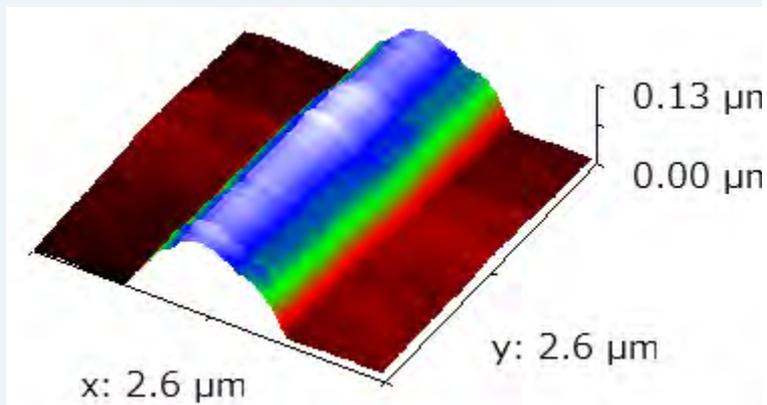


SiNW

Before covering the gel



After covering the gel



まとめ

今回のプログラムでは、容易にSiNWにDNAだけを検出させる方法を考え、第一ステップである、基板上に薄膜の形成に成功した。

次のステップとして.....



部分的にSiNWを加熱し、ゲルをもう一度溶解させる

しかし、ゲルを溶解させるのに、水が必要となる。
その際に、どうやって部分的に水を止めておくか、考える必要がある。

ITPを通して学んだもの

新たな知識の獲得

- ・ バイオ分野での知識
- ・ 装置の操作方法

自分に足りないもの

- ・ 専門的な知識(英単語も含む)
- ・ 広い視野
- ・ 英語力(単語力・文法など)
- ・ 積極性

経験

- ・ 不慣れな土地での2ヶ月の一人暮らし
- ・ 全く異なった文化・習慣との接触
- ・ あらゆる国の人たちとの出会い・コミュニケーション

言語

- ・ 言語能力の向上心

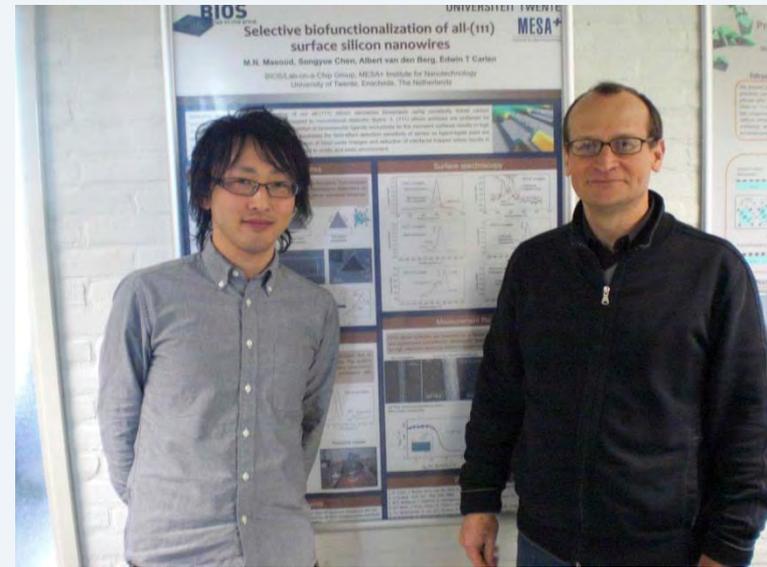
謝辞

このような機会を与えてくださった、堀先生、豊田先生、秘書の中島さんに心より感謝したいと思います。

また、オランダでいろいろとお世話をしていただいた、トゥエンテ大学のスタッフに心より感謝したいと思います。

This work was supported by the JSPS International Training Program (ITP).

Thank you very much for your attention !!



Acknowledgement

This work was supported by the JSPS International Training Program (ITP).

アガロースゲル

アガロースゲルは電気泳動の際に良く使用され、細動などのサイズでDNA,または分子を分離するの際に利用される。

アガロースの硬さは、アガロースの濃度によって制御することができる。



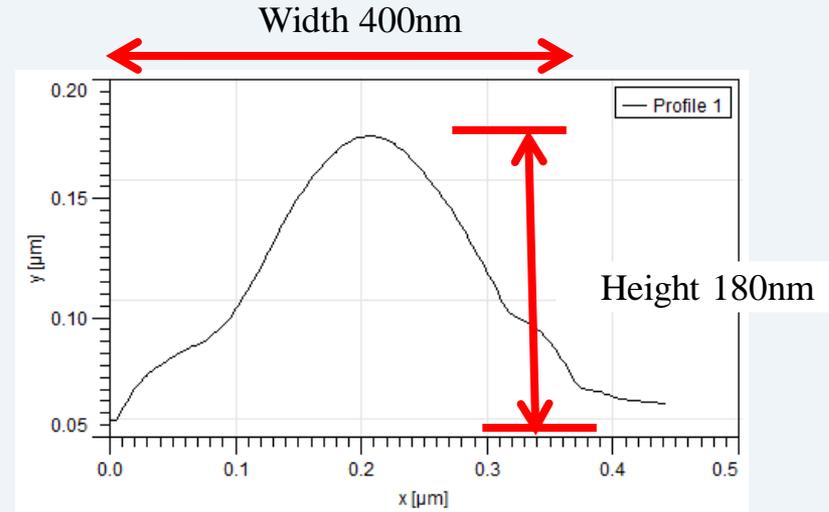
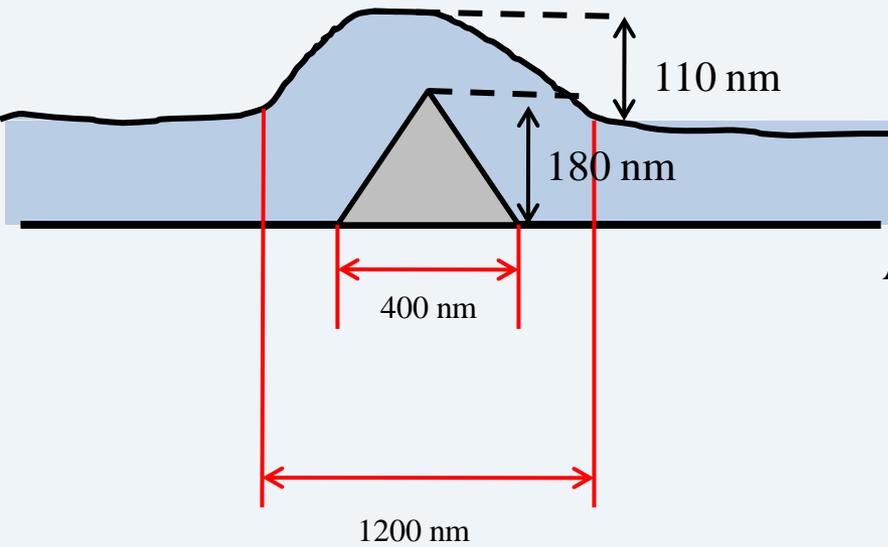
- ・ 熱水に中でのアガロースの再溶解

アガロースが固まった後、再び、80 °C 付近で再度溶解することが分かった。

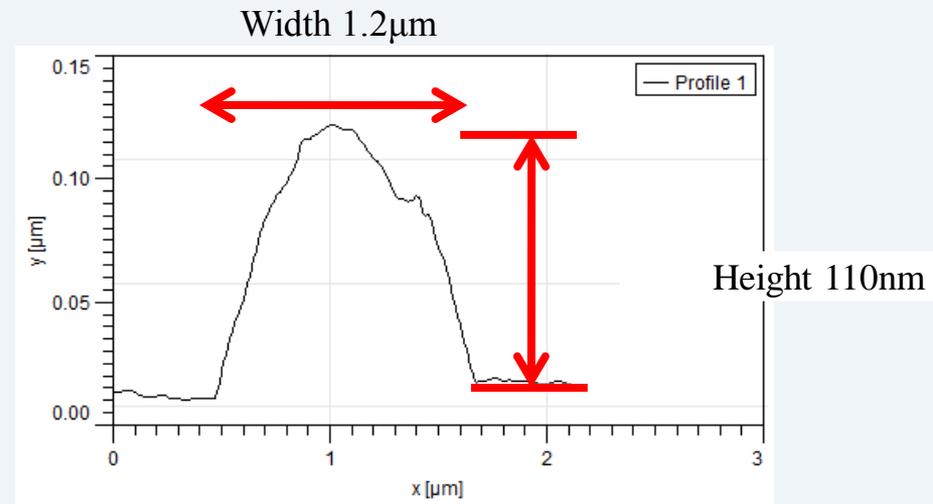
SiNWはSiO₂で構成されているので、SiO₂上でアガロースの薄膜形成を行った。

SiNWのイメージ図

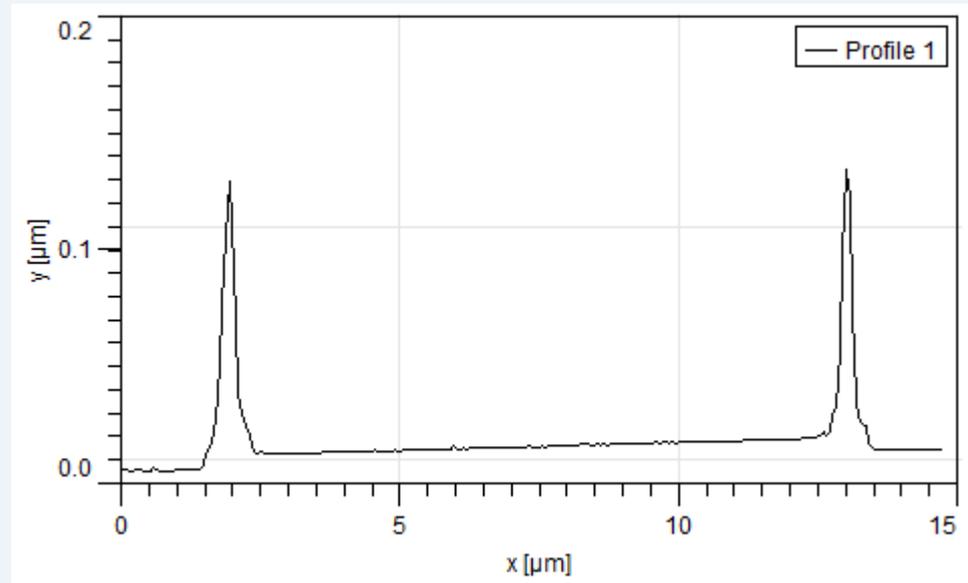
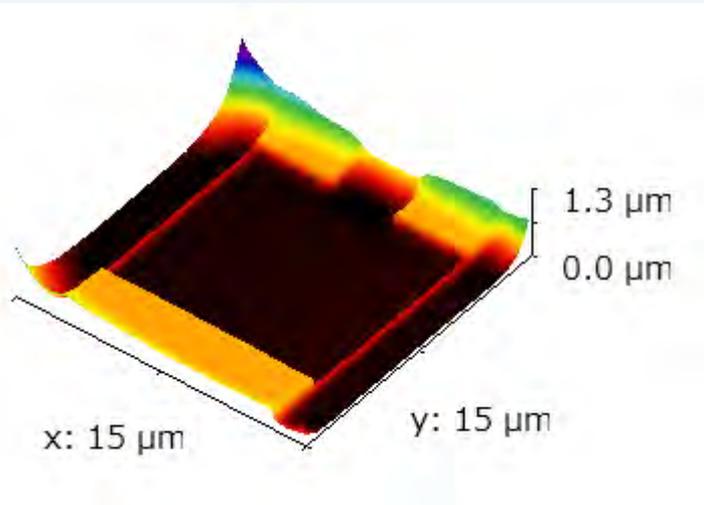
Before covering the gel



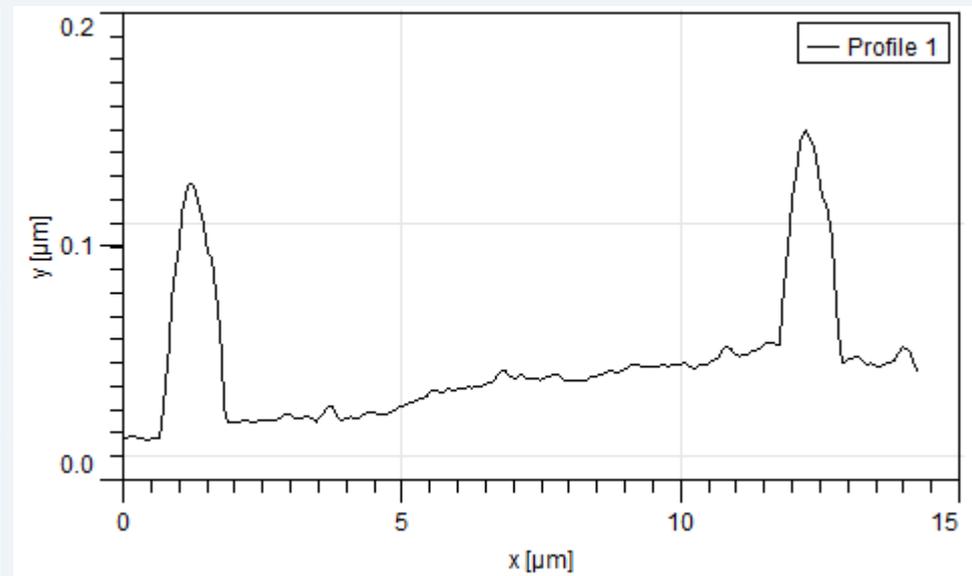
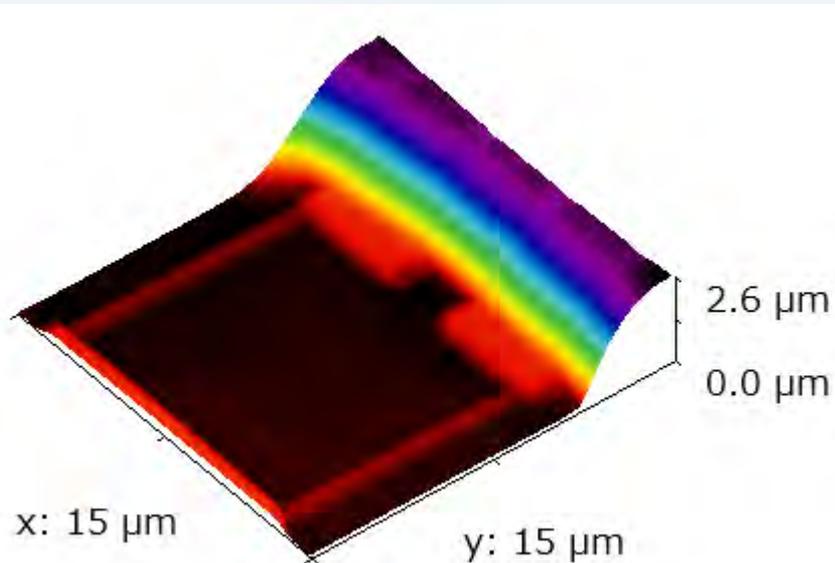
After covering the gel

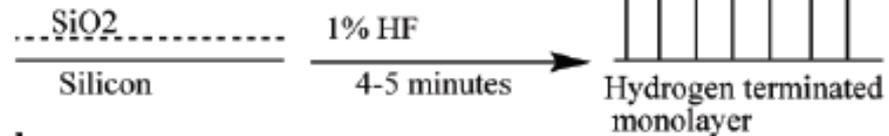
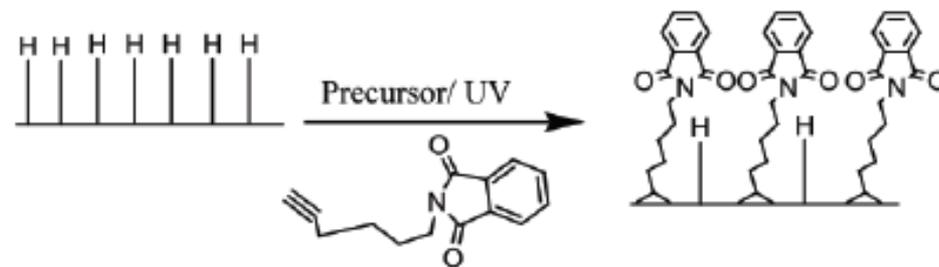
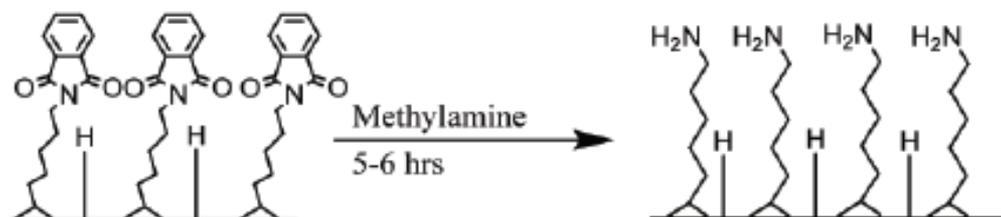
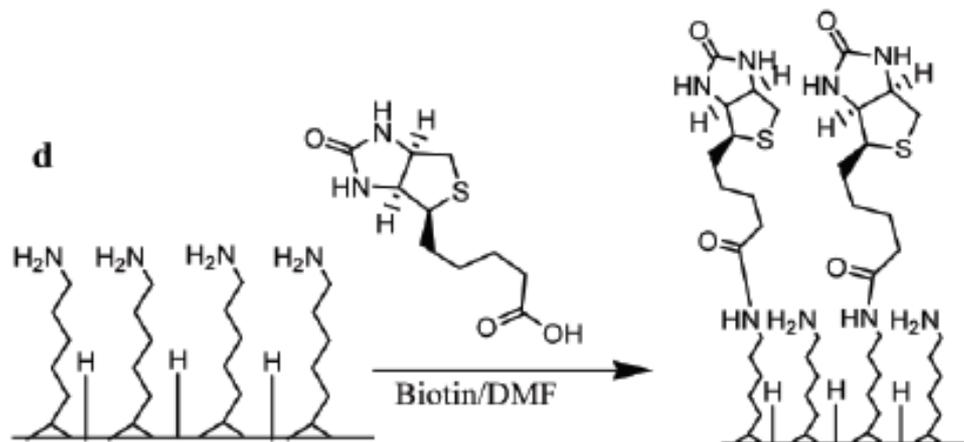


Before covering the gel



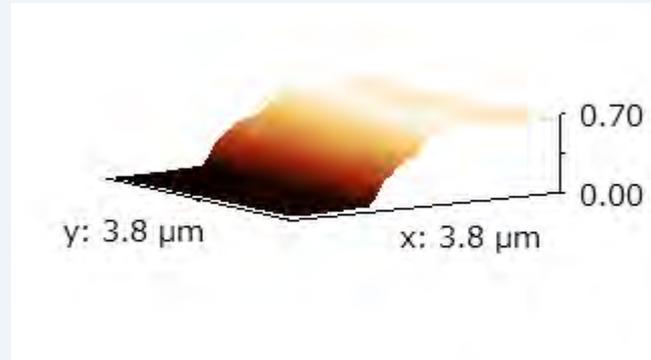
After covering the gel



a**b****c****d**

Results

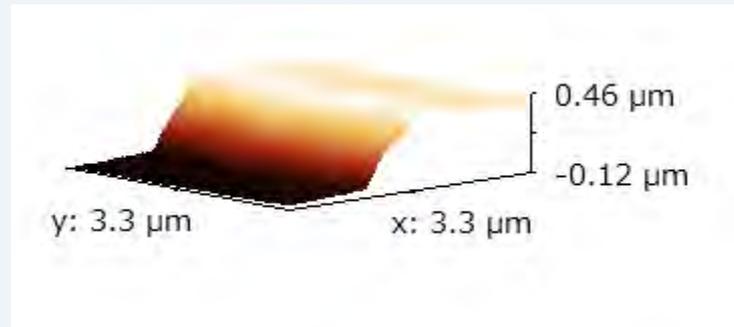
Shape of sub : square
Spread speed : 5000 [rpm]
Spread times : 10 [s]
Spin speed : 10000 [rpm]
Spin times : 110 [s]



Results

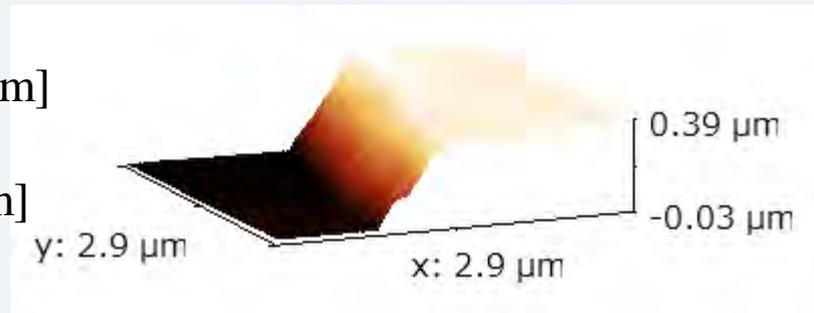
The height of gel : 700 nm

Shape of sub : square
Spread speed : 5000 [rpm]
Spread times : 15 [s]
Spin speed : 10000 [rpm]
Spin times : 105 [s]



The height of gel : 400 nm

Shape of sub : square
Spread speed : 6000 [rpm]
Spread times : 5 [s]
Spin speed : 10000 [rpm]
Spin times : 115 [s]



The height of gel : 370 nm

Results

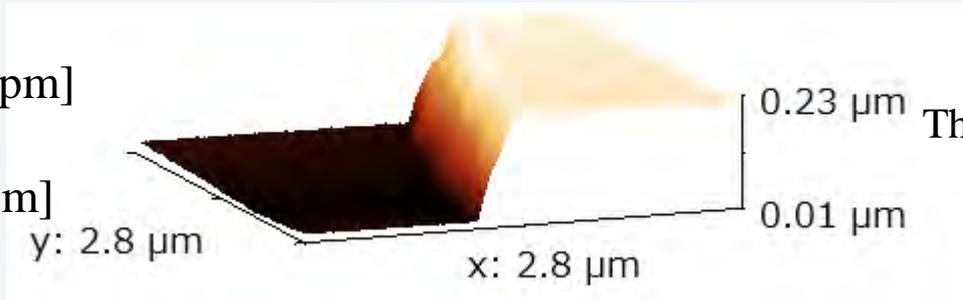
Shape of sub : square

Spread speed : 6000 [rpm]

Spread times : 10 [s]

Spin speed : 10000 [rpm]

Spin times : 110 [s]



Results

The height of gel : 200 nm

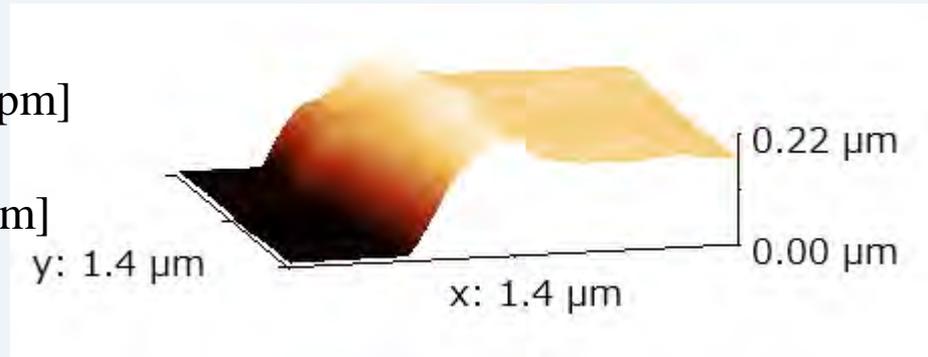
Shape of sub : square

Spread speed : 7000 [rpm]

Spread times : 5 [s]

Spin speed : 10000 [rpm]

Spin times : 115 [s]



The height of gel : 140 nm

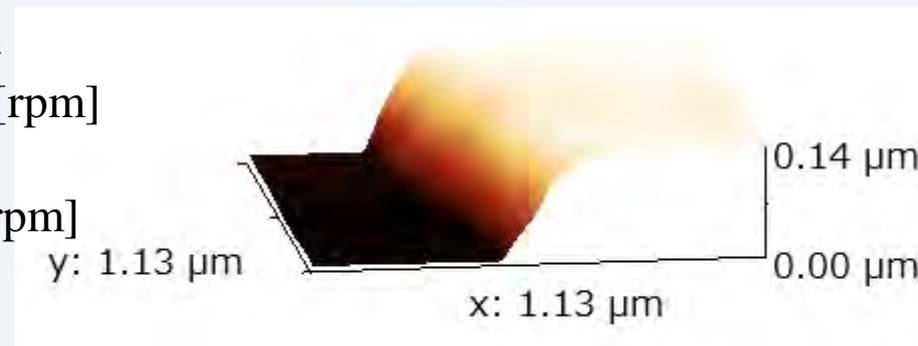
Shape of sub : square

Spread speed : 7000 [rpm]

Spread times : 10 [s]

Spin speed : 10000 [rpm]

Spin times : 110 [s]



The height of gel : 120 nm

Results

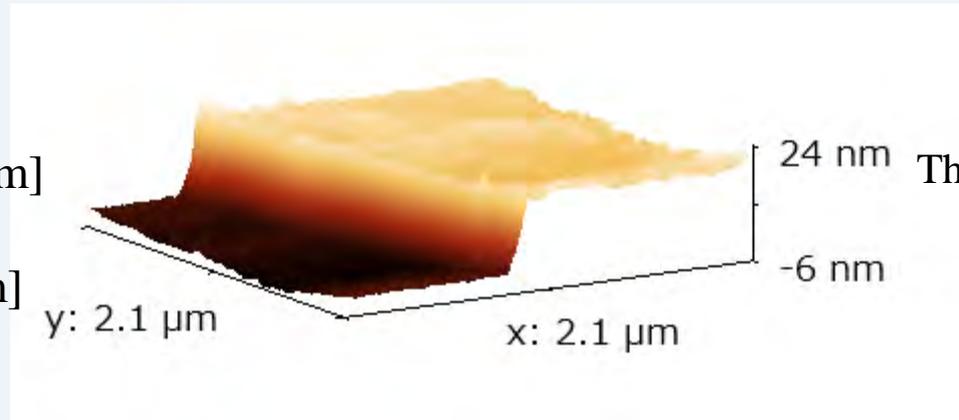
Shape of sub : square

Spread speed : 8000 [rpm]

Spread times : 30 [s]

Spin speed : 10000 [rpm]

Spin times : 90[s]



Results

The height of gel : 15 nm

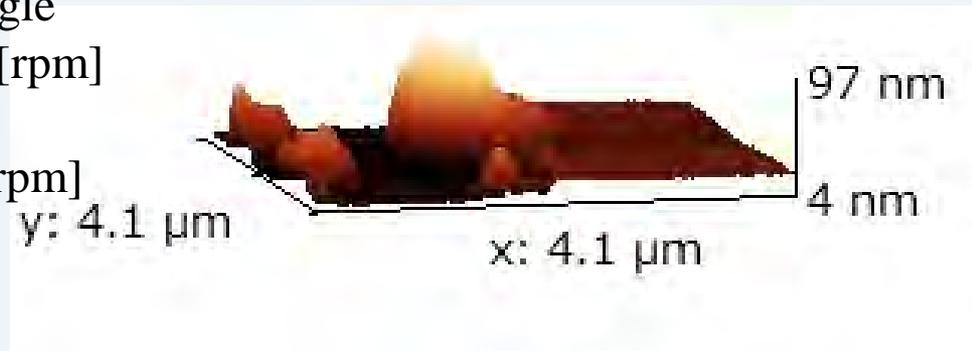
Shape of sub : rectangle

Spread speed : 8000 [rpm]

Spread times : 30 [s]

Spin speed : 10000 [rpm]

Spin times : 90[s]



The height of gel : 20 nm

