

広島大院理)

○西川綾佳・塚原聡・岡本泰明・藤原照文

【緒言】DNA の分離分析法には、ゲル電気泳動のように DNA をサイズ分離するものが一般的に使用されている。しかし、この方法は 40 kbp(bp: 塩基対)を超える大きな DNA には適用するのが難しいため、大きな DNA を分離するための効率的な分離分析法を確立する必要がある。本研究ではこの試みのために、DNA の顕微誘電泳動に着目した。誘電泳動とは、不均一な電場内に存在する微粒子に誘起された双極子と電場との相互作用を駆動力とする泳動である。DNA を染色する色素や、DNA 溶液中に添加した界面活性剤が及ぼす影響について基礎検討を行った。

【実験】 $\lambda$ DNA(48 kbp)と T4DNA(166 kbp)を、acridine orange(AO)または 4',6-diamidino-2-phenylindole(DAPI)で蛍光染色した。用いた平面マイクロ四重極電極の顕微画像を Fig.1 に示す。これは、フォトリソグラフィにより作製した。電極間距離は 200  $\mu\text{m}$  である。対向する電極が交流電源の同じ極になるように配線し、1 kHz–10 MHz, 10 V を印加した。この電極内における DNA の誘電泳動挙動を蛍光顕微鏡を用いて測定した。泳動の様子をビデオに録画して、各静止画において DNA と電極中心の間の距離  $R$  を測定し、 $\ln R$  を時間  $t$  に対してプロットすると直線関係が得られる。この直線の傾きから誘電泳動移動度  $\alpha$  を求めた。さらに DNA 溶液に陽イオン性、陰イオン性界面活性剤を添加して、DNA の誘電泳動挙動に及ぼす影響を検討した。

【結果と考察】DNA は電場の強い電極方向へ向かって泳動した。得られた  $\alpha$  は Fig.2 に示すように低周波数側で大きく、高周波数になるに従って小さくなった。また低周波数領域で T4DNA の方が  $\lambda$ DNA より泳動速度が大きかった。 $\lambda$ DNA では色素による違いはほとんど現れなかったが、T4DNA では低周波数領域で AO を用いたときの方が DAPI を用いたときより泳動速度が大きかった。この蛍光色素の影響の違いは、DNA との結合様式が両色素間で異なるためであると考えられる。<sup>1)</sup>

SDS(ドデシル硫酸ナトリウム)を添加すると、DNA の  $\alpha$  はわずかに小さくなったものの大きな効果はなかった。CTAC(塩化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム)を添加した場合は、CTAC が DNA と強く結合するため、蛍光色素との結合が阻害され DNA の検出が難しかった。

<sup>1)</sup> 西川綾佳・塚原聡・岡本泰明・藤原照文：日本分析化学討論会要旨集 p62(2004)

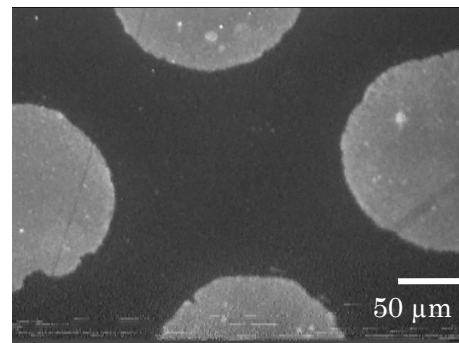


Fig.1 作製した平面マイクロ四重極電極  
白色の部分が電極

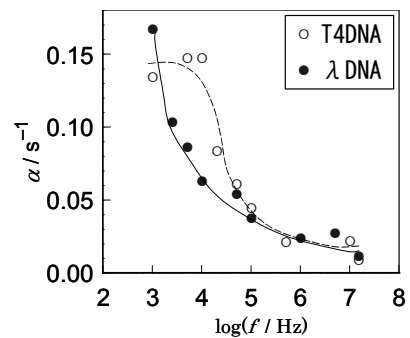


Fig.2 DNA の誘電泳動移動度  $\alpha$  の  
周波数( $f$ )依存性。色素 AO, 電圧 10 V