

■報告書■ 2004 年度神奈川大学総合理学研究所助成共同研究

## DNA チップのための新規 DNA 固定化法の開発

山口和夫<sup>1,3</sup> 塩野博文<sup>2</sup>

### Development of a Novel Method for Immobilization of DNA Applied for DNA Chip

Kazuo Yamaguchi<sup>1,3</sup>, Hirofumi Shiono<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Materials Science, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka-City, Kanagawa 259-1293, Japan

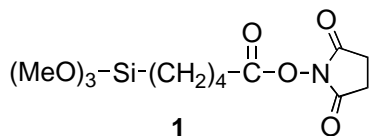
<sup>2</sup> Business Development Department, Core Technology Center, Nikon Corporation, Ohi Plant, Shinagawa-ku, Tokyo 140-8601, Japan

<sup>3</sup> To whom correspondence should be addressed. E-mail: kazu@kanagawa-u.ac.jp

**Abstract:** Silane coupling agent **1** containing active ester was synthesized and applied for surface modification of silicon wafer. An active ester immobilized using **1** was reacted with a nonanucleotide containing an amino group at the 5'-terminal labeled with a fluorescent reagent followed by observation of the surfaces using a fluorescence microscope. The result showed that the coupling agent was potential for novel compounds for immobilization of DNA.

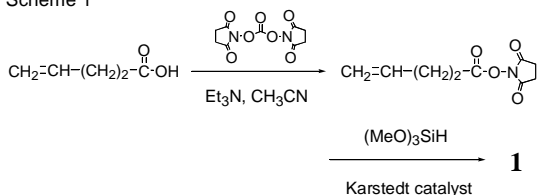
**Keyword:** active ester, silane coupling agent, silicon wafer, immobilized amine, DNA chip

本研究室ではこれまでに、光分解性 2-ニトロベンジル誘導体で様々な有機官能基を保護したシランカップリング剤を合成し、無機材料表面への修飾、光照射を行い、官能基の導入を接触角 XPS の測定などにより確認している<sup>1,2)</sup>。



本研究では活性エステルを含むシランカップリング剤 **1** を合成し、無機材料への表面修飾後 活性エステル部位でアミノ基を含む化合物を固定する方法を検討し、DNA チップへの応用の可能性を探ることを目的とした。

Scheme 1



**1** の合成法を Scheme 1 に示す。

**1** は、<sup>1</sup>H NMR スペクトル、元素分析により同定した。

シリコンウェハを Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> / NaHCO<sub>3</sub> (pH = 9.5)

に浸した後に、**1** の 5%エタノール溶液を無機材料表面に滴下し、2 時間静置した。その後送風定温乾燥機で 2 時間静置することにより修飾基板を得た。その後アミノ基を含む蛍光試薬を Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> / NaHCO<sub>3</sub> (pH = 9.5) と DMF で調整した溶液 0.5 μl を無機材料表面に滴下し、終夜放置することにより蛍光試薬の固定を行った。蛍光顕微鏡によりアミノ基を含む蛍光試薬の固定を観察することができた。さらに、蛍光試薬の代わりに 5'末端にアミノ基を含み 3'末端に蛍光ラベルしたノナヌクレオチドを同様の条件下で反応させた。この場合にも、蛍光顕微鏡により活性エステルと反応して表面に固定されたノナヌクレオチドの蛍光が観察された。

以上のことから、**1** を用いてアミノ基を持つ核酸を固定し、相補的な塩基配列を持つ核酸をハイブリダイゼーションさせ、分析できるような DNA チップのための固定化方法の可能性が示された。

### 文献

- 1) Novel silane coupling agents containing a photolabile 2-nitrobenzyl ester for introduction of a carboxy group on the surface of silica gel, Yamaguchi K, Kitabatake T, Izawa M, Fujiwara T, Nishimura H and T. Futami (2000) *Chem. Lett.*, **29**: 228-229.
- 2) Controlled surface properties of photoreactive

monomolecular layers containing nitrobenzyl ester,  
Nakayama H, Yamaguchi K (2003) *Polym. Prep.*

*Jpn.* **52**: 820.