

An integrated system for enzymatic cleavage and electrostretching of freely-suspended single DNA molecules

Liza Lam, Shouichi Sakakihara,, Koji Ishizuka, Shoji Takeuchi and Hiroyuki Noji
LabChip, 2007, 7, 1738–1745

自由拡散する DNA1 分子に対する制限酵素アッセイや、交流電界によってその DNA を伸張するためのポリアクリルアミドゲルベースのフェムトリットルチャンバーを開発した。我々は、このチャンバー内に蛍光染色した λ DNA を制限酵素とともに閉じこめ、その反応を外部から添加するマグネシウムイオンによって制御することに成功した。制限酵素反応後、切断された DNA 断片はその長さを光学的に直接計測するために、電氣的に伸張させた。閉じこめた DNA を伸張させるために必要な条件は、7%のリニアポリアクリルアミド (LPA) と、 10^3V/cm オーダーの電界強度で 1.5kHz の高周波であった。チャンバー内での DNA1 分子に対する制限酵素切断の実験では、得られるフラグメントの数が、予想されるフラグメントの数と常に一致した。この多用途なチャンバーは、1 分子レベルでリアルタイムの生化学反応の直接観察を実現する。さらには、DNA を用いたアッセイのいくつかを統合できる能力があることを議論する。