

メカニカルプローブを用いた DNA のモレキュラーサージェリー

産業機械工学科 20197 福家真史 指導教官: 鷲津正夫 教授

1. 研究の背景

従来の遺伝子操作では試料は水溶液ベース、すなわち水溶液という形で多数の分子を同時に扱う。それに対し本研究では、1 分子に対し切断などの分子改変を行うモレキュラーサージェリー (分子手術) という手法を用いて、DNA 1 分子レベルでのマニピュレーションを行う新しい遺伝子操作手法の開発を目指す。

そこで、メカニカルプローブを用い、基板表面に伸長された DNA から切断片を得ることを考える。まず、DNA に高周波電界をかけることで、DNA を伸長させる (静電伸長)。次に切断を行うわけだが、DNA を機械的に切断するのではなく、プローブに切断酵素を修飾し、これを DNA に押しあてることにより DNA を酵素的に切断するという研究がなされている。酵素的切断を行うことにより、DNA 切断点の分子構造が決定されるという利点がある。ただし、DNA が基板表面に全面的に吸着している場合、酵素が作用することができないので、DNA を空中に保持する必要がある。

2. 研究の目的

本研究では、微小凹凸構造上への DNA の固定 (図 1) を試みた。微小凹凸構造上に DNA を固定すると、DNA は多点で固定されるため、固定点以外で DNA を空中に保持でき、なおかつ切断によって伸長状態が損なわれないため、切断片の回収が容易に行える。方法としては、

1. 凹凸構造上静電伸長による固定法
2. シリコンゴムスタンプによる固定法

の 2 つを試みた。

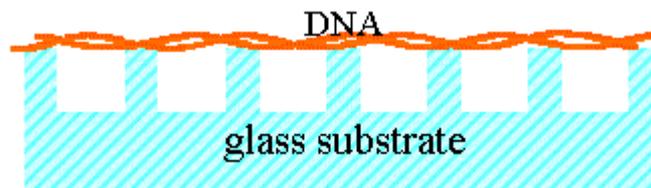


図 1 微小凹凸構造上への DNA の固定

3.微小凹凸構造での DNA の静電伸長

微小凹凸構造はガラス表面を固体紫外レーザーで走査することによりを作製した。次に、微小凹凸構造上で DNA の静電伸長を試みたが、表面導電性の影響で微小凹凸構造上では電界が歪み、DNA が凹部に引き込まれ、静電伸長がすることができなかった(図 2,3)。

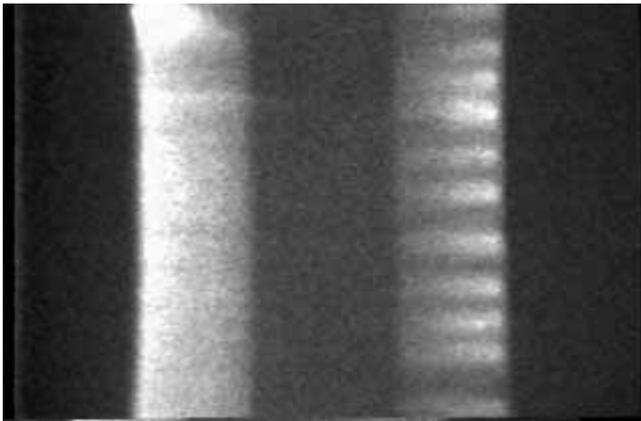


図 2 静電伸長(凹凸なし)

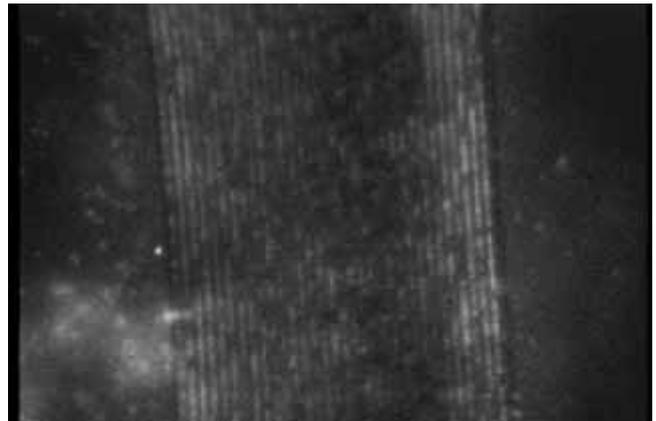


図 3 静電伸長(凹凸上)

4.シリコンゴムスタンプによる固定法

シリコンゴム上に伸長した DNA を微小凹凸構造上にスタンプし、DNA を転写するという方法を行った。スタンプにはまず、シリコンゴム表面に電極を作製し、DNA を静電伸長させる。この際、電界を切ると伸長状態は失われるが、DNA は端部が電極端に固定されたままになる。その後、molecular combing 法により再伸長するが、シリコンゴムと DNA の親和性が低いため、DNA を引き伸ばした状態で保持することができないものの(図 4)、DNA を転写することはできた(図 5)。親和性を高めると、保持することはできるが(図 6)、逆にシリコンゴム表面に固着し、DNA を転写することができないという結果を得た。



図4 DNA再伸長(未処理)

図5 転写されたDNA

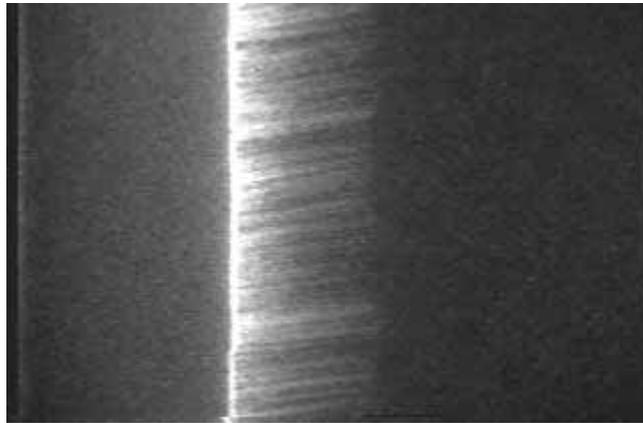


図6 DNA再伸長(親和性を高めたもの)

5.結論

1. 凹凸構造上では表面導電性の影響で電界が歪み、静電伸長することができない。
2. シリコンゴムスタンプによる固定法を行うには、シリコンゴムとDNAの親和性の制御する、もしくは親和性によらない別の伸長固定法が必要であると考えられる。