

遺伝子相同組換え過程の可視化とその応用（木村祐史）

目標：

RecA/Rad51 ファミリータンパク質は生体内で DNA の損傷を相同組換えにより修復しており、DNA 修復に中心的な役割を果たしている（図 1）。本研究では、遺伝子の組換えを反応が起こっている現場で実時間観察することにより、

- 1) 相同組換えタンパク質が DNA 相鎖配列を探し出すメカニズムの解明
 - 2) 相同組換えタンパク質を利用した 1 分子相同組換え技術の開発
 - 3) DNA 上の特定の配列を直視するオプティカルマッピング技術を開発
- 以上、3 つの項目を目標としている。

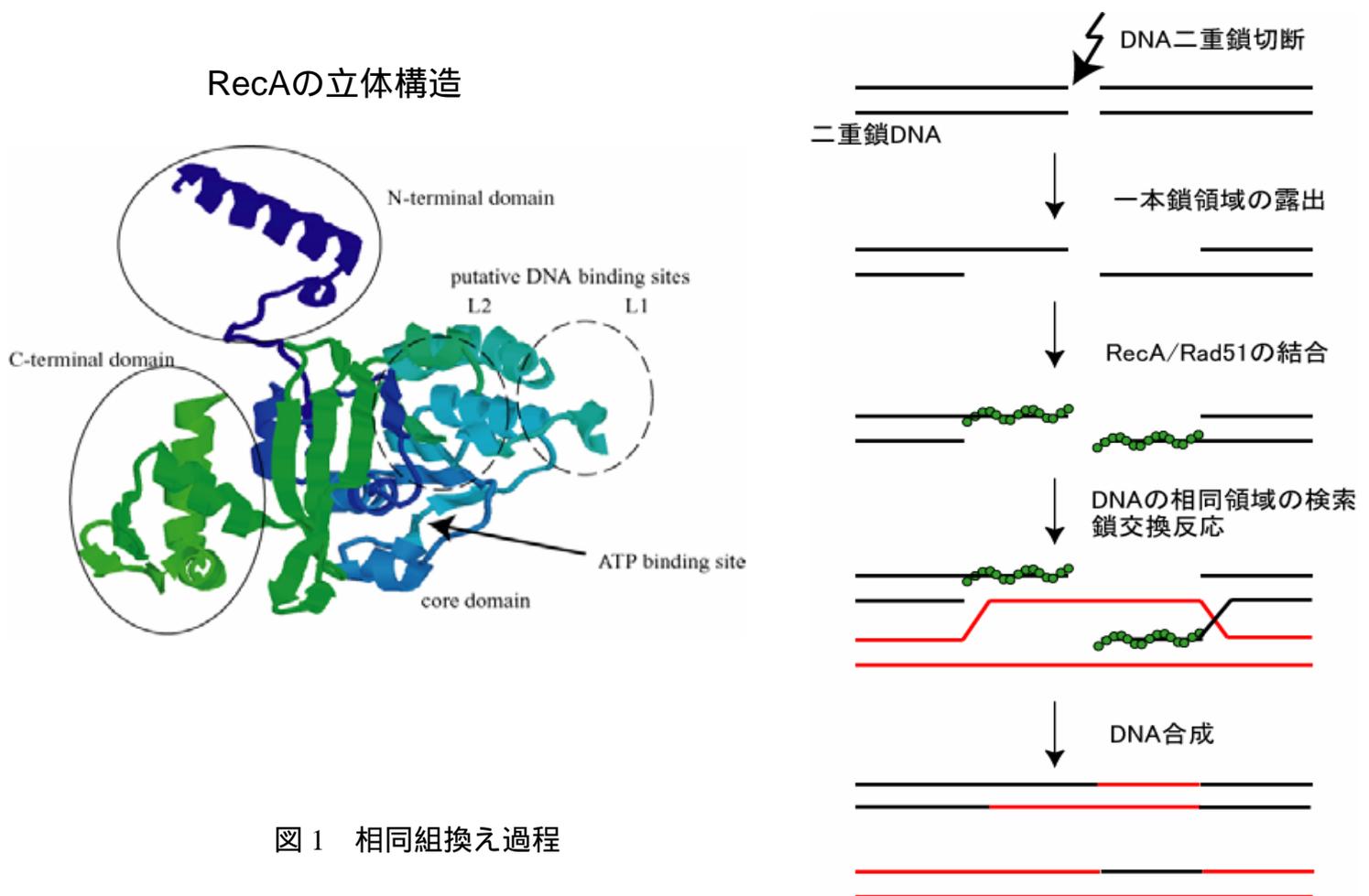


図 1 相同組換え過程

方法と結果：

水溶液中で球状に丸まって存在する二本鎖 DNA を、スライドガラス上に作成したアルミ電極間に交流電界(1MV/m, 1MHz)をかけることで伸長し固定した。そこに蛍光標識した一本鎖 DNA と RecA の複合体を流入させると、複合体は伸長固定された二本鎖 DNA 上に結合した(図 2a)。また、一部の複合体が二本鎖 DNA に沿って動く様子が観察された(図 2b)。以上のように、本研究では組換え過程のダイナミクスを直接観察することが可能であり、今

後詳細な解析を加えることで相同組換えメカニズムの解明に迫る予定である。また、得られた知見を生かし、1分子組換え・オプティカルマッピング技術へと発展させる。

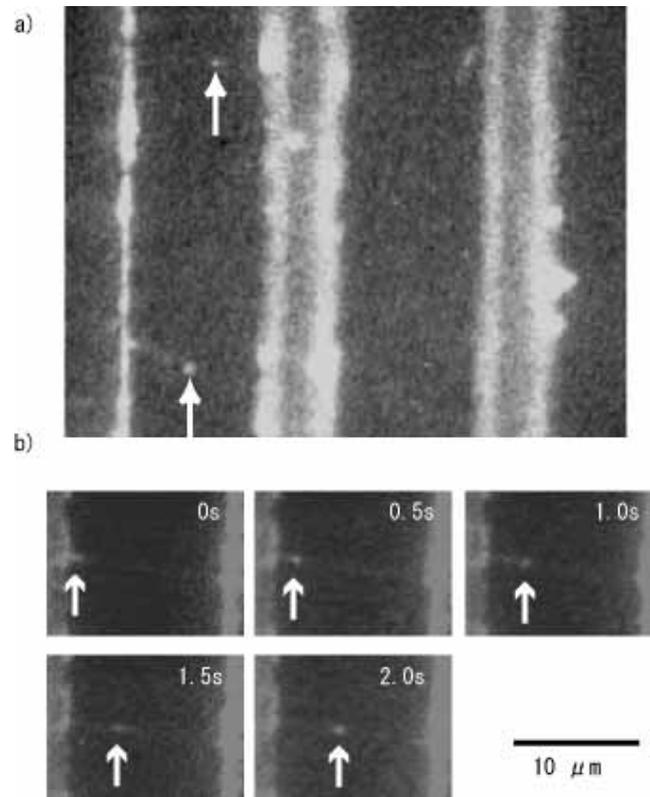


図2. (a) 伸長固定 DNA に結合した一本鎖 DNA/RecA 複合体 (b) 伸長固定 DNA 上を移動する複合体