

微細流路中での染色体 DNA 高次構造制御

産業機械工学科 30211 萩谷 功

指導教員 小穴英廣 講師

背景

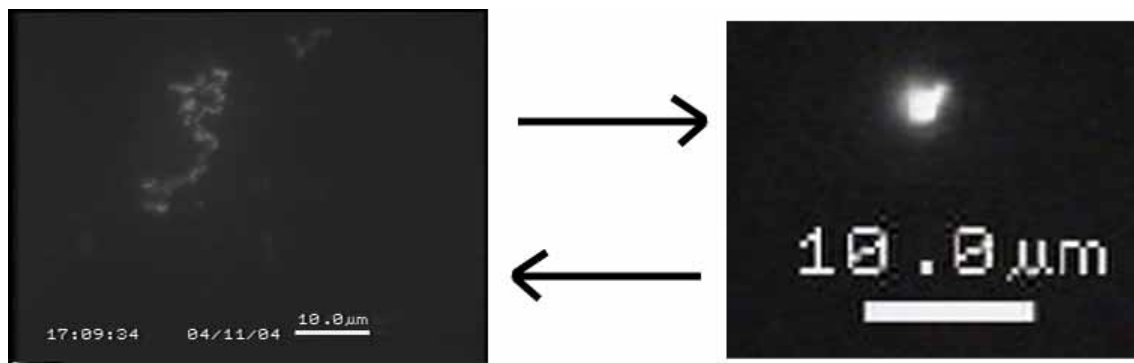
全長 mm ~ cm オーダーの長さを持つものもある DNA は細胞中でコンパクトに折り畳まれた形態、凝縮状態で存在する。

この DNA は周りの溶媒環境によって高次構造が可逆的に、凝縮状態と凝縮が解けた状態であるコイル状態とに変化する、

という性質を持っている。遺伝子の位置検出など DNA を解析しようとする際は一般に凝縮が解けた状態であるコイル状態で

行われている。しかし、コイル状態の DNA はピペット操作をするとそのせん断力によりすぐに断片化してしまう。

そのため DNA を凝縮状態のまま顕微鏡下に持って行き、顕微鏡下で凝縮を解いて断片化していないコイル状 DNA を得たい。



コイル状DNA

凝縮DNA

図1 . DNA のコイル状態と凝縮状態

本研究の目的

顕微鏡下で DNA 周囲の溶媒環境を変えて DNA 高次構造を操作する実験システムの構築、そしてその実験システムを使って凝縮状態の DNA を高次構造変化させるための条件検討を行う

微細流路

DNA 周囲の溶媒条件を顕微鏡下で変えて DNA の凝縮を解きたい。そこで、微細流路というものに注目した。

微細流路中ではシリンジポンプなどを用いて溶液を一定流量で導入し、溶液の流量を制御することにより

流路内滞在時間を厳密に制御することが可能である。特性として、マイクロスケールのために層流支配となる。

そのため、微細流路に 2 液を導入しても乱流による混合は起こらず、分子拡散のみが混合に寄与する。

よって、異なる溶媒条件を隣接させる実験場が可能となる。

光ピンセット

微細流路中で DNA を搬送し、隣接する異なる溶媒条件下に搬送したい。そこで、光ピンセットという技術に注目した。

波長よりも十分小さい微粒子は光の電磁波から放射圧を受ける。集光したレーザー光を微粒子に照射した場合

レーザー光の焦点の方向に放射圧が働き、その放射圧を利用して微小な粒子を焦点付近でトラップする事が可能となる。

この技術を利用して密な構造である凝縮した DNA を非接触・非破壊で単分子操作する事が出来る。

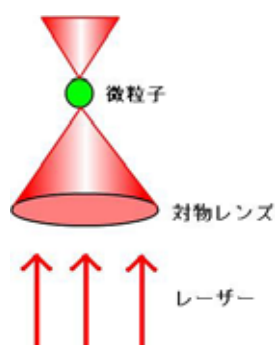


図 2. 光ピンセット

spermine 200 μ M で凝縮させた酵母 DNA (全長 1.2mm ~ 1.9mm) を用い、Spermine と DNA の相互作用を弱めるために凝縮剤を含まない溶液に塩を添加した。

そして、図の赤い矢印の経路をたどって SPM200 μM が含まれる溶液から SPM0 μM , NaCl 1 M が含まれる溶液へと DNA 一分子を搬送した

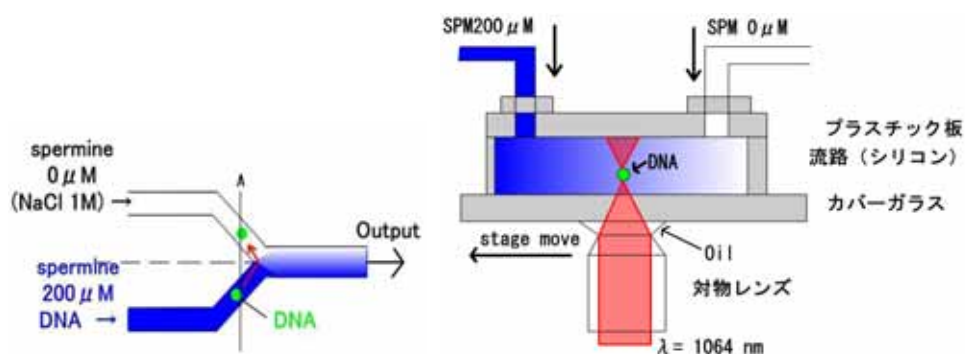


図 3. 実験機構

図 4. 図 3 を A にて横から見た図

結果

DNA の形態が玉状から棒状へと変化した。しかし、光ピンセットから外れることはなかった。

これは大量の塩のために部分的に DNA が形態変化したものとする。

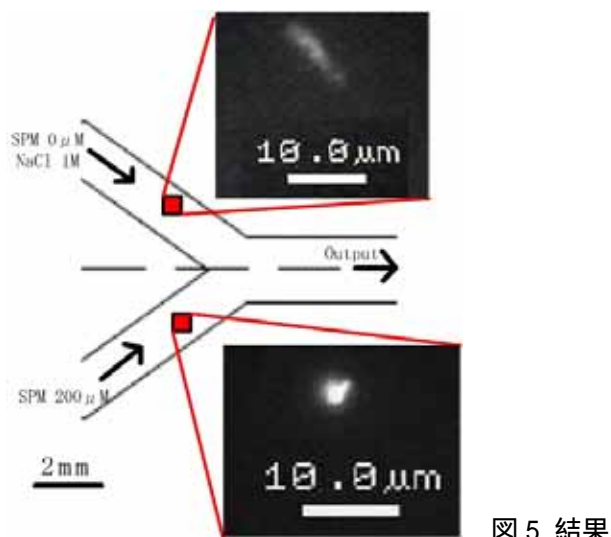


図 5. 結果

まとめ

本研究では顕微鏡下で DNA の周囲の溶媒条件を変えて DNA の反応を観察できるシステムを作り、その中で DNA 単分子の反応実験を行うことを目的とした。

結果、凝縮した染色体 DNA を、Sperimine 0 μ M、 NaCl 1M の溶媒条件中へ搬送することにより、染色体 DNA は部分的に凝縮が解けた形態になった。

この高次構造制御技術が、将来、形態を単分子制御して細胞から染色体 DNA1 分子を取り出し解析する技術に発展することが期待される。