

微細構造を用いた DNA 分子液中操作と単分子解析への応用

佐藤吉信

DNA とタンパクの複合体であるクロマチンへの後天的な修飾により遺伝子発現が制御されることが知られており、エピジェネティクスと呼ばれている。エピジェネティクスは癌や先天異常といった病気の原因と関係していることが知られている。DNA へのタンパクの結合位置を解析することで、DNA の遺伝子解析では得られなかった、遺伝子発現に関する情報を得られることが期待され、医療に対して有用な知見をもたらすと考えられる。

従来のタンパクの結合位置解析法は、DNA を断片化して解析するため、DNA 断片の配列の同定およびデータベースとの比較が必要となり、手間がかかるという問題がある。また、複数の細胞から取り出された DNA をまとめて解析するため、個々の細胞が持つ情報が平均化され、埋没してしまう可能性があるという問題がある。

本研究は、蛍光ラベルされた抗体をプローブとして用いることで、DNA に結合したタンパクを可視化し、DNA 単分子上のタンパクの結合位置を顕微鏡下で簡便に取得する手法の確立を目指した。さらに、その DNA をマイクロフック（2006 寺尾京平参照）で引っ張ることで、DNA の凝縮をほどいて一本のファイバー状に伸長し、高い空間分解能でタンパク結合位置情報を取得することを試みた。

KOD1 細胞から取り出されたゲノム DNA をサンプルとして用い、DNA に結合した Cdc6 タンパクを、蛍光色素 Alexa 594 で蛍光ラベルされた抗体で可視化した。結果、DNA 上において Alexa 594 の蛍光が確認された。しかし、非特異吸着が発生している可能性は残った。また、マイクロフックを用いることで、上記の DNA を液中で引っ張り伸長できることが示された。

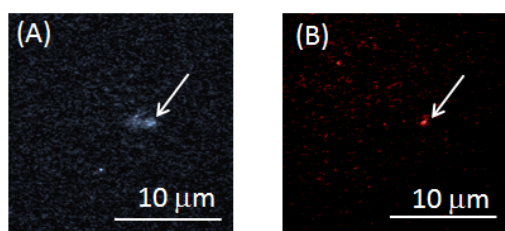


Fig. 1 抗体染色の蛍光観察結果。(A) DNA 蛍光像。(B) 蛍光ラベルされた抗体の蛍光像。矢印は同一の箇所を示す。

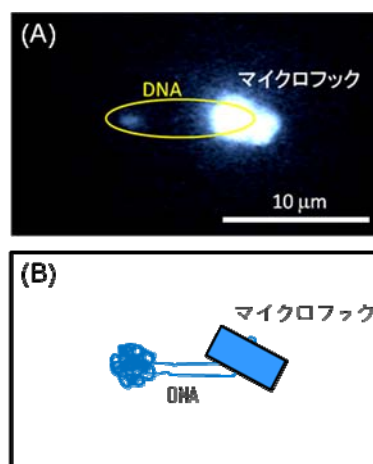


Fig. 2 (A) タンパクの付いた DNA をマイクロフックで引っ張り、伸長させた写真。(B) 模式図。