

相同組換えタンパクをプローブに用いたオンチップ塩基配列探索

工学部機械工学科 4年 03-110217 東郷智之 指導教員: 小穴英廣 准教授

1. 研究背景

DNA の相同組換えとは、互いに相同な塩基配列を持つ 2 つの DNA の間で、その DNA 鎖が交換される現象であり、このときに主な役割を果たすのが相同組換えタンパク *RecA* である。*RecA* は ssDNA と結合し、dsDNA 上の相同領域を検索、結合を行う。この *RecA* の性質を利用して新たな塩基配列探索の手法が考えられてきた。

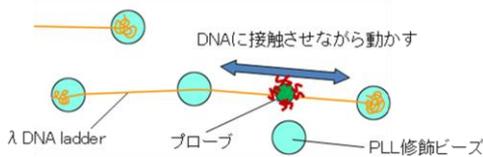


図 1 光ピンセットを用いた塩基配列探索の様子

先行研究では、塩基配列探索を行うプローブを光ピンセットで操作するために、マイクロビーズ、ssDNA、*RecA* を結合したものを作製し、人為的にプローブビーズと DNA を結合させた。DNA の伸長固定には、DNA が負に帯電していることを利用して、ガラス基板上に正に帯電した PLL ビーズを配置して固定した。しかし、この固定方法は偶然性によるところが大きく、数が少ない、固定位置や DNA の伸び具合がランダム、といった問題があった。そのため、より正確な位置特定をする方法を考える必要があった(図 1)。

2. 目的

偶然性によることなく、精度よく目的の塩基配列の位置を検出する手法を確立すること。

3. 実験方法

λ DNA を静電伸長固定により両端で直線状に伸長固定する。そこに *RecA*/ssDNA 複合体が結合したプローブビーズを光ピンセットで操作し、

DNA 上をスキャンするようになぞることで、人為的にλ DNA とプローブビーズを結合させる(図 2)。

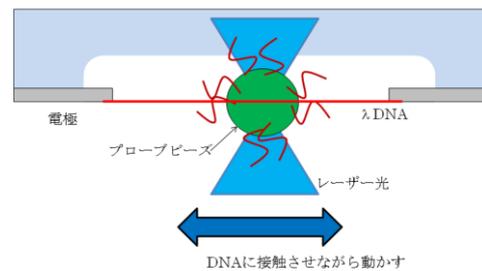


図 2 本研究で行う実験

4. 結果

プローブの結合位置を調べたところ、目的の位置で結合していることが分かった(図 3)。

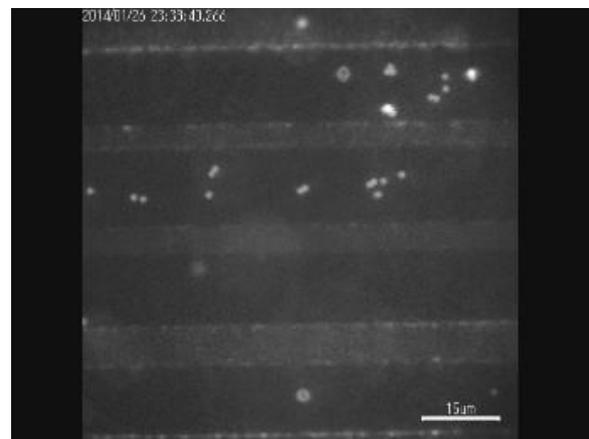


図 3 λ DNA とビーズの結合

5. まとめ

静電伸長固定法によりλ DNA を両端のみで固定することによって、λ DNA とプローブビーズの結合位置を判定できるようになった。また、直径の 1 μm のビーズをプローブビーズに用いることで、1 度に大量のデータを得ることができるようになった。