

- 703 エバネッセント顕微鏡を使った DNA 相互作用のリアルタイム検出
(北陸先端大・材料) ○金 道均・崔 龍成・村上 裕二・民谷 栄一

【目的】 DNA チップ開発で問題となる DNA 相互作用をリアルタイム観察し、また検出法としても用いるべくエバネッセント顕微鏡を使ってプローブとターゲットオリゴヌクレオチド相互作用の特性を評価した。エバネッセント顕微鏡は基板表面近傍に存在する光で表面に親和性がある分子の蛍光ラベルを励起する顕微鏡である。

【方法及び結果】 5'末端をビオチン化したオリゴヌクレオチドプローブは、ビオチン-アビジンの結合によりパターン化担体の表面に固定した。エバネッセント顕微鏡によって相補鎖オリゴヌクレオチドの濃度に従う DNA 相互作用の蛍光強度を検出した。この結果、1nM までの濃度依存性が認められた。さらに、種々のミスマッチオリゴヌクレオチド間の蛍光強度を検出した。この結果、ミスマッチに応じて、蛍光強度が非常に低くなることを確認した。また、末端にミスマッチ塩基配列を持つオリゴヌクレオチドの方が中央にミスマッチ塩基配列があるオリゴヌクレオチドより大きな蛍光強度を与えることを確認した。

Real-time detection of DNA hybridization assay by using evanescent microscopy

○Do-Kyun Kim, Yong-Sung Choi, Yuji Murakami, Eiichi Tamiya

(School of Materials Science, Japan Advanced Institute of Science & Technology)

【Key Words】 Evanescent microscopy, DNA hybridization, DNA chip microarray

- 704 AFMを用いたヒト染色体構造の解析と操作
(北陸先端大・材料、*新潟大・医歯学総合) ○小川健一、斎藤真人、森田資隆、村上裕二、横山憲二、牛木辰男*、民谷栄一

【目的】 多様な反復配列と遺伝子分布の研究から、1本の染色体が高度な構造分化を遂げていることが明らかになり、ヒト染色体は遺伝子以外にも多くの情報を持つと考えられている。そこで、ゲノム配列からは分からない染色体情報の高度な解析法が必要である。本研究では、原子間力顕微鏡(Atomic Force Microscope: AFM)の利点を生かしたナノレベルでの染色体のマニピュレーションにより、染色体の直接的な構造解析、および操作技術の開発を試みた。

【方法および結果】 ヘパリン採血した血液をphytohemagglutinin添加したウシ血清培地にて培養し、分裂前期の染色体サンプルを得た。これをガラス板上に展開して、ギムザ染色を行い、乾燥状態でAFM測定を行った。その結果、得られたAFMイメージから、ギムザ染色をした乾燥状態の染色体長さは2-10 μm 、高さは100-200 nmであることが確認できた。また、染色体内の微細構造、セントロメアおよびテロメア領域が確認できた。次に、AFMプローブにて染色体の切断を行った。その結果、切断部分のAFMイメージより、切断幅は100 nmであった。さらに、テロメア部位を切断して断片部分の回収を行い、テロメア長の確認を検討している。

AFM manipulation and imaging of human chromosomes.

○Ken-ichi Ogawa, Masato Saito, Yasutaka Morita, Yuji Murakami, Kenji Yokoyama, Tatsuo Ushiki*, Eiichi Tamiya (Sch. Mat. Sci., JAIST, * Niigata Univ.)

【Key words】 human chromosomes, AFM imaging, manipulation, telomere