

課題番号 : F-19-KT-0133
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : DNA カーテン法を用いて DNA 上のタンパク質の動態を明らかにする(2)
Program Title(English) : Observation of protein dynamics on DNA using DNA curtain assay (2)
利用者名(日本語) : 寺川剛
Username(English) : T. Terakawa
所属名(日本語) : 京都大学大学院理学研究科
Affiliation(English) : Graduate School of Science, Kyoto University
キーワード/Keyword : リソグラフィ・露光・描画装置、スライドガラス、クロム

1. 概要(Summary)

これまでの研究結果、ガラススライド上に描画したナノパターンに DNA を張り、DNA カーテンを蛍光顕微鏡観察することができた。本報告書では、さらに詳細に検討するため、DNA 上にコンデンシンと呼ばれるタンパク質をロードして、そのトランスロケーションを蛍光顕微鏡観察することを試みる。コンデンシンは、細胞の有糸分裂期に染色体の構造形成を担うタンパク質で、その構造形成の分子機構は明らかではない。コンデンシンの DNA 上におけるダイナミクスを観察することによって、その分子機構を明らかにできると期待される。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

ウエハスピン洗浄装置、高速高精度電子ビーム描画装置、厚膜フォトレジスト用スピコーティング装置、電子線蒸着装置

【実験方法】

まず、ウエハスピン洗浄装置を用いてガラススライドを洗浄した。次に、厚膜フォトレジスト用スピコーティング装置を HMDS を塗布した。さらに、スピコーターを用いて PMGI-SF5S、ZEP-520A、エスパーサーを塗布した。そして、高速高精度電子ビーム描画装置を用いてパターンの描画を行った。その後、ドラフトチャンバーにおいて現像・エッチングを行い、電子線蒸着装置を用いてクロムを蒸着した。最後に、ドラフトチャンバーにおいてリフトオフを行い、ガラススライド上にパターンを描画した。

描画したパターンに DNA を固定し、その DNA を YoYoI と呼ばれる蛍光色素で蛍光標識し、全反射蛍光顕微鏡観察した。さらにその DNA 上にコンデンシンタンパク質をロードして観察した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

ガラススライド上に描画したナノパターンに DNA を固定し DNA カーテンを蛍光顕微鏡観察することができた (Fig. 1 upper)。さらに、その DNA 上にコンデンシンと呼ばれるタンパク質をロードして、そのトランスロケーションを蛍光顕微鏡観察することができた (Fig. 1 below)。

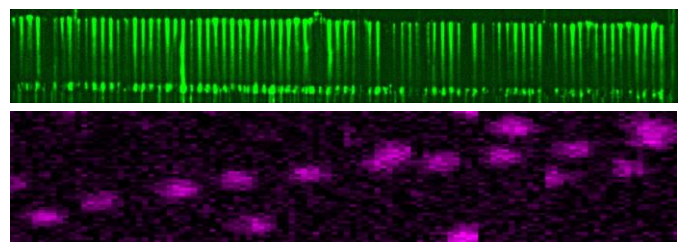


Fig. 1 Condensin molecule on DNA curtain.

4. その他・特記事項(Others)

・参考文献

[1] EC Greene et al., Methods Enzymol 472, (2010) 293-315

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

寺川 剛 「DNA curtains: high-throughput single molecule imaging for DNA transactions」 第 57 回日本生物物理学会年会 (学会発表)

寺川 剛 「Single-molecule observation of chromatin condensation induced by Condensin molecular motor」 第 42 回日本分子生物学会年会 (学会発表)

6. 関連特許(Patent)

なし