

染色体高次構造のナノ計測

- 比較ゲノム構造解析とnanoFISH -

研究の特徴

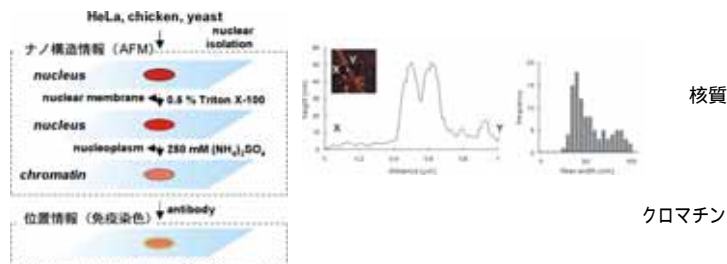
比較ゲノム構造解析法の開発：細胞から単離した核に対して様々な生化学処理と蛍光免疫染色を施し、さらにSPM計測と組み合わせて、ナノ構造情報と位置情報の同時計測が可能とし、ゲノム高次構造に関する情報を得る。

ナノFISH法の開発：従来から行われているFluorescence in situ hybridization (FISH)法とSNOM/AFMを組み合わせることにより、光学顕微鏡を超える分解能でゲノム上の遺伝子や特定塩基配列の位置を検出し、さらには染色体の高次折れ畳み構造を解析することをめざす。

研究の内容

比較ゲノム構造解析

細胞から単離した核に対して、界面活性剤、塩で順次処理することにより、核膜、核質及びクロマチンを可視化する(左下図)。さらに蛍光免疫染色を施すことにより、ナノ構造情報と位置情報の同時計測が可能となった(右図)。ファイバー径は40 nm程度(中図)。抗体分子は非常に大きい(~10 nm)ため、免疫染色を先に行うとファイバーは観察できない。



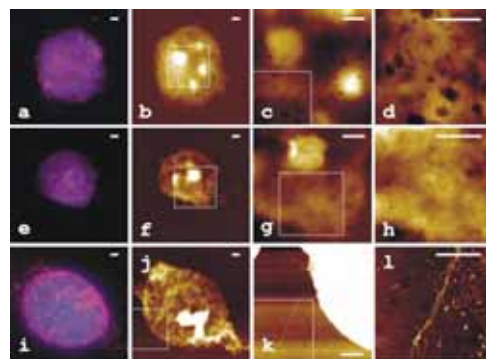
DNA
lamin B1

Bar 2µm

核膜

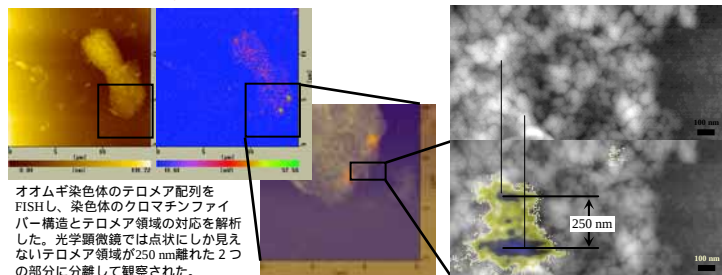
核質

クロマチン



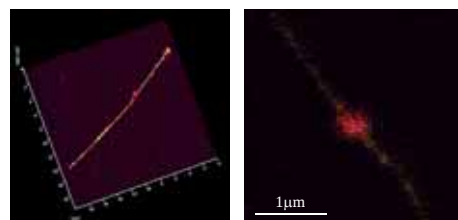
染色体ナノFISH

染色体の立体構造には、まだ不明な点が多く残されている(図左上)。そこで、SNOM/AFMによりFISH法で標識した特定配列の染色体上の分布とクロマチンファイバーの折れ畳み構造を対応させることにより、染色体高次構造に関する知見を得ることを試みた。



DNAナノFISH

SNOM/AFMによる遺伝子(マーカー)位置の高分解能検出、AFMによる染色体の連続切断回収とDNA増幅に基づく、新規ゲノム解析手法の開発を推進している。



λDNA上の特定遺伝子の頭部15塩基をFISH法により蛍光標識し、SNOM/AFMによりナノスケール分解能で検出することに成功。

今後の展開

SNOM/AFMやAFMと免疫蛍光染色法及び蛍光in situハイブリダイゼーション法との組み合わせにより、従来法では得ることが困難であった、染色体・ゲノム高次構造に関する知見を得る。

参 考

1. Hierarchical chromatin structure of *Schizosaccharomyces pombe* revealed by atomic force microscopy. ; Kobori T, Yoshino T, Sugiyama S, and Ohtani T., Curr. Microbiol. 47, 404-407, 2003
2. Scanning near-field optical/atomic force microscopy detection of FISH signals beyond the optical limit. ; D. Fukushi, M. Shichiri, T. Yoshino, S. Sugiyama, S. Hagiwara, T. Ohtani, Exp. Cell Res. 289, 237-244 (2003).
3. Visualizing a hybridized PNA probe on a DNA molecule with near-field optical microscopy ; J.M. Kim, T. Hirose, S. Sugiyama, T. Ohtani, H. Muramatsu, Nano Lett. 4, 2091-2097 (2004).



代表研究者:小堀俊郎、杉山 滋
所 属:食品工学部 計測工学研究室
問い合わせ先:〒305 - 8642
茨城県つくば市観音台2 - 1 - 12

独立行政法人
食品総合研究所