

液中 FM-AFM による左巻き DNA の高分解能観察

High-resolution imaging of left-handed DNA by FM-AFM in liquids

京大工¹, 京大白眉セ² °木南 裕陽¹, 小林 圭^{1,2}, 山田 啓文¹

Dept. of Electronic Sci. & Eng., Kyoto Univ.¹, The Hakubi Center for Adv. Res., Kyoto Univ.²

°H.Kominami¹, K. Kobayashi^{1,2}, H. Yamada¹

E-mail: h.kominami@piezo.kuce.kyoto-u.ac.jp

【はじめに】近年、周波数変調原子間力顕微鏡 (FM-AFM) により液中環境下において生体分子のナノスケールでの観察が盛んに行われている。われわれはこれまでに自己組織化した IgG 抗体分子の可視化および抗原活性評価[1]や plasmid DNA の 2 重らせん構造の高分解能観察[2]に成功している。DNA は通常、互いに相補的な 2 本の DNA が B 型と呼ばれる 2 重らせん構造を形成するが、B 型 DNA には主溝、副溝と 2 種類の溝が存在し、これらが通常のねじと同様に右巻きとなっている[2]。一方、特殊な状況下においては左巻きの 2 重らせん構造 (Z 型) や 1 本鎖構造をとりうる。ことが知られており、これらの構造は遺伝子の発現や複製過程に密接に関連している。例えば、プリン塩基とピリミジン塩基が交互に並ぶ塩基配列の場合、高塩濃度環境下においては B 型が Z 型へと転移する (B-Z 転移)。本研究では、FM-AFM を用いて Z 型の 2 重らせん構造をとる DNA オリゴマーの液中高分解能観察を行った。

【実験方法と結果】DNA オリゴマー ($d(GC)_{36}dA_{32}$) の溶液を 76.7°C に加熱し 1 時間かけて 20°C まで冷却することによって 2 本の DNA の $d(GC)_{36}$ の部分が B 型 2 重らせん構造を形成する。しかし、 dA_{32} の部分は 1 本鎖 (ssDNA) の状態を維持しているため、図 1(a) に示す構造を持つ DNA が形成される。作製した DNA の溶液を 50 mM $NiCl_2$ とともにへき開したマイカ基板上に滴下することで 2 本鎖部分が Z 型へと転移する。作製した DNA の液中 FM-AFM 像を図 1(b) に示す。図 1(b) 中の白線で示すようにらせん軸に対して左巻きに鎖が回転していることがわかる。らせん構造の周期はおよそ 4.5 nm であった。さらに、plasmid DNA も同時に滴下し、液中 FM-AFM 観察を行ったところ、B 型の plasmid DNA と Z 型構造が含まれる DNA が同時に観察された (図 2)。図 2 内の直線 A-B, C-D を通る断面プロファイル (図 3) を示す。Z-DNA の高さを B-DNA と比較すると、約 0.2 nm 低く、ssDNA 部分は B-DNA に比べ高さが約 1.1 nm 低いことがわかった。

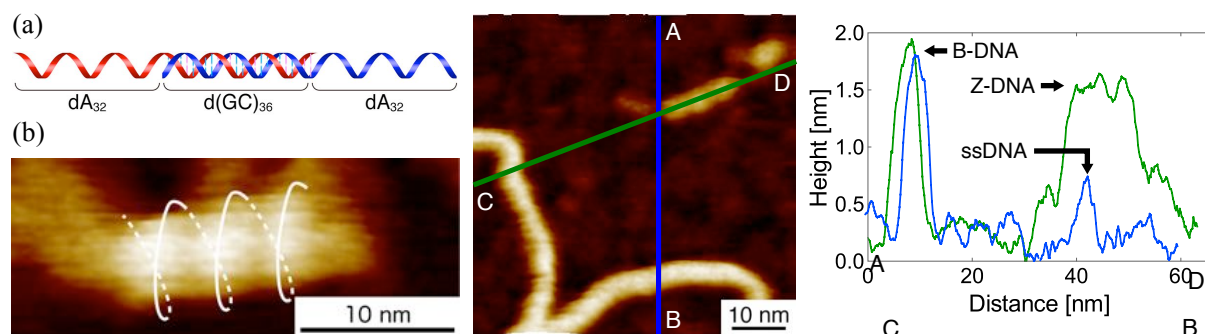


図 1: (a) Z-DNA のモデル図. (b) Z-DNA の液中 FM-AFM 像 (50 mM $NiCl_2$ 中観察).

図 2: Z-DNA, ssDNA, B-DNA の液中 FM-AFM 像 (50 mM $NiCl_2$ 中観察). 図 3: 図 2 の直線 A-B, C-D を通る断面プロファイル.

[1] S. Ido et al. *Nature Mater.* **13**, 264 (2014). [2] S. Ido et al. *ACS Nano* **7**, 1817 (2013).