

モレキュラービーコンを用いた 1 分子 FRET 計測系の構築

Single-molecule FRET measurements using molecular beacon

早大理工¹, 東北大学際研²

和泉聡志¹, 大久保幸太朗¹, 櫛田昂歳¹, 山本英明², 谷井孝至¹

Waseda Univ.¹, Tohoku Univ.²

Satoshi Izumi¹, Kotaro Okubo¹, Takatoshi Kushida¹, Hideaki Yamamoto², Takashi Tanii¹

E-mail: izumi@tanii.nano.waseda.ac.jp

【はじめに】両端部に相補的な配列部分をもつ 1 本鎖 DNA は、ヘアピンループを介して両端部が対形成することにより環状構造をとるだけでなく、ヘアピン部に相補的な DNA とのハイブリダイゼーションや温度の昇降によって人為的に開閉できるため、Molecular beacon (MB) と呼ばれる。また 3'末端と 5'末端を、それぞれ Förster resonance energy transfer (FRET) を起こす 2 種類の蛍光色素で標識すれば、FRET を通じて MB の開閉を 1 分子計測できる。ここで、MB の両末端を（鎖で繋がれた）別々の生体分子と見なし、閉環・開環状態をこれら 2 分子の結合・解離と見なせば、MB は生体分子間の結合・解離を 1 分子 FRET で模倣する簡便なモデル系となる。そこで、私たちは MB を用いた 1 分子 FRET 系の構築を試みた。

【実験方法】文献[1]を参考に 3'末端を Cy3（蛍光波長 560nm）、5'末端を Cy5（蛍光波長 660nm）で標識した MB を設計し、この MB をビオチン-アビジン結合を介して、文献[2]で報告した zero-mode waveguide (ZMW) に固定した。ZMW に励起光（波長 550 nm）を照射すると、MB が固定された ZMW に蛍光スポットを観測できる。Cy3 からの蛍光であれば FRET が生じていないので MB が開環状態であることを、Cy5 からの蛍光であれば MB は閉環状態であることを意味する。

【実験結果】図 1(a) は室温で頻繁に観測される、ある 1 つの ZMW での蛍光強度変化例である。FRET が生じており、蛍光強度のほぼすべてが Cy5 からの蛍光である。矢印の時点で蛍光分子が量子的に退色していることから、1 分子 MB からの FRET であったことが分かる。図 1(b) は、室温でごく稀に観測される蛍光強度の変化である。FRET 特有の 2 色の蛍光の逆相関が見られており、MB 両端が不完全に対形成したために中途半端に閉環していると考えられる。講演では ZMW 構造と FRET 強度の関係などの詳細を発表する予定である。なお、本研究は文科省科研費基盤研究 C (26390035) の助成を受けて進められている。

[1] T. Kihara, et al: Biosens. & Bioelec. 26 (2010)1449.

[2] T. Miyake, et al: Anal. Chem. 80 (2008) 6018.

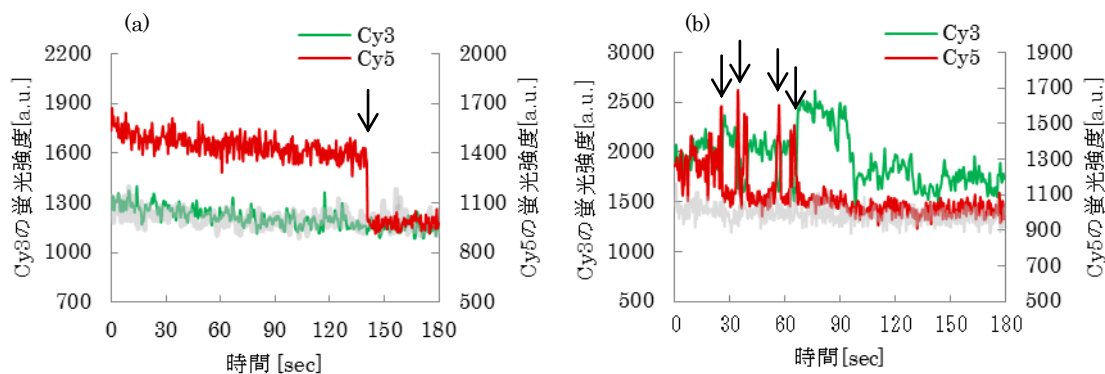


図 1 (a) 室温で頻繁に観察される 1 分子 MB からの FRET 計測例. (b) 室温で稀に見られる計測例.