

DNA オリガミを用いた biotin 結合タンパク質の液中 FM-AFM 観察

Investigation of biotin-binding proteins using DNA origami template using FM-AFM in aqueous solutions.

京大工, °山本 悠樹, 木南 裕陽, 小林 圭, 山田 啓文

Dept. of Electronic Sci. & Eng., Kyoto Univ., °Y. Yamamoto, H. Kominami, K. Kobayashi, H. Yamada

E-mail: y.yamamoto@piezo.kuee.kyoto-u.ac.jp

DNA は遺伝やタンパク質合成などの情報を持つ重要な生体分子であるが、近年においては、この DNA を工業の分野へ応用しようとする試みが加速している。DNA オリガミ[1]はその一例であり、DNA が持つ塩基の相補的な結合を用いて、所望の構造を自己組織的に作製することができる。また、様々な分子や粒子を配置・整列する基板としての応用も期待されている[2]。本研究では、4 つの窓を設けた長方形の DNA オリガミにおいて、窓の端部に biotin 修飾した staple DNA を用い、biotin 結合タンパク質である streptavidin の構造観察を目的とした。観察には液中動作可能な周波数変調原子間力顕微鏡(FM-AFM)を用いた。

本研究で作製した DNA オリガミの模式図を Fig.1 に示す。環状の 1 本鎖 DNA(M13mp18, 10 nM)と 190 種類の DNA オリゴマー(40 nM)を 10 mM MgCl₂ を添加した TE バッファへ加え、85°C にアニール後、15°C まで 72 分かけて冷却することで DNA オリガミを作製した。DNA オリガミを含む溶液を観察溶液(25mM MgCl₂)とともにへき開したマイカ基板上に滴下し、5 分間静置した後、吸着しなかった DNA オリガミをリンスにより取り除いた。その後、streptavidin 溶液(0.25 mg/mL)を滴下し、同様に静置した後、リンスにより非吸着分を除去した。次に、biotin 修飾されたウシ血清アルブミン(B-BSA, 0.1 mg/mL)を同様の手順で加えた。Fig.2 はタンパク質を吸着させた DNA オリガミの FM-AFM 像である。窓の端部に設けた biotin に対して streptavidin が結合し、さらに、その streptavidin に B-BSA が結合している様子が観察されている。

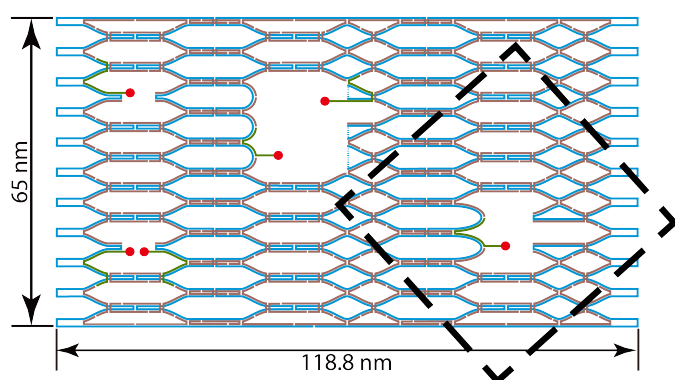


Fig.1: 作製した DNA オリガミのモデル図

(青 : M13mp18, 茶 : staple DNA, 緑 : biotin 修飾した staple DNA, 赤 : biotin, 黒破線部が Fig.2 に相当)

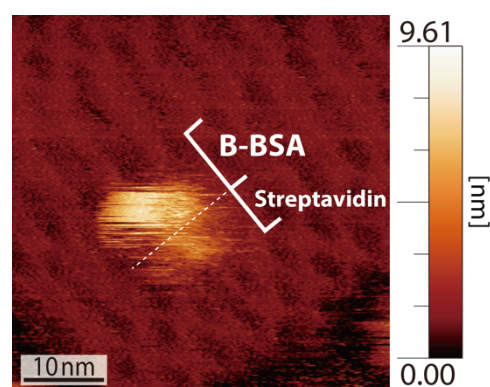


Fig.2: 液中 FM-AFM 観察像
(25mM MgCl₂ 中観察)

[1] P. W. K. Rothmund, *Nature* **440**, 297 (2006).

[2] A. Kuzyk, K. T. Laitinen, P. Törmä, *Nanotechnol.* **20**, 235305 (2009)