液中 FM-AFM による左巻き DNA の表面電荷密度マッピング

Surface charge density mapping of left-handed DNA by using FM-AFM in liquids

京大工　°木南 裕陽，小林 圭，山田 啓文

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

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

生体内における分子間の特異認識メカニズムには分子の持つ電荷情報が密接に関係している。DNA は通常右巻きの 2 重らせん構造をとるが、特定の条件下において異なるコンフォメーションをとることが知られており、タンパク質との結合時に表面電荷状態を変化させていることが示唆される。われわれはこれまでに液中周波数変調原子間力顕微鏡 (FM-AFM) を用いることで右巻き DNA (B-DNA) の表面電荷密度計測[1]や左巻き DNA (Z-DNA) の高分解能観察[2]に成功している。本研究では Z 型コンフォメーションを含む DNA を作製し、3 次元フォースマッピングを行うことで B-DNA と Z-DNA の表面電荷密度を同時に測定した結果について報告する。

中央付近に $d(GC)_{12}$ の塩基配列を有する一対の相補的 1 本鎖 DNA (ssDNA) を TNE Buffer 内にて混合し、85℃まで加熱した後に−1℃/min の勾配で 65 分間冷却することで両端に B 型、中央に Z 型を有する 2 本鎖 DNA (BZ-DNA) を作製した (Fig. 1)。作製した BZ-DNA 溶液を 50 mM $NiCl_2$ 水溶液とともにへき開したマイカ基板上に滴下し、BZ-DNA 上において 3 次元フォースマッピングを行った。取得した 3 次元フォースマップより再構成した constant Δf (Δf = +118 Hz) 像を Fig. 2(a)に、(a)内線分 A-B に沿った断面プロファイルを Fig. 2(b)に示す。両端に比べ中央の高さが低くなっており、Z-DNA が形成されていることが確認された。また、取得された各フォースカーブから表面電荷密度を計算して[3]得られた表面電荷密度像を Fig. 2(c)に、(c)内線分 C−D に沿った表面電荷密度プロファイルを Fig. 2(d)に示す。Z-DNA 上における表面電荷密度が B-DNA 上と比較して小さい (弱く負帯電している) ことが明らかとなった。これは B 型に比べ Z 型が引き伸ばされた形をとること (B-DNA: 0.34 nm/bp, Z-DNA: 0.38 nm/bp) に起因すると考えられる。

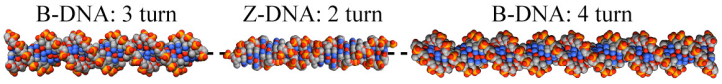

Fig. 1: 本研究で作製した DNA (BZ-DNA) のモデル図.

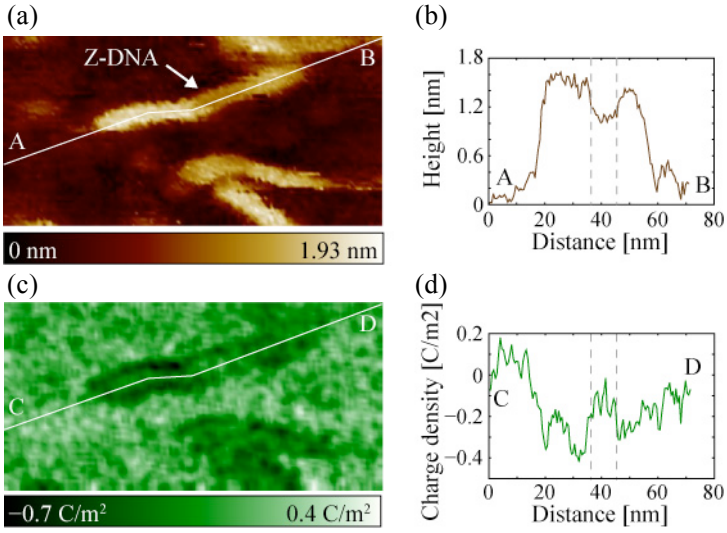

Fig. 2: (a) 再構成された constant Δf 像. (b) (a)内線分 A-B に沿った断面プロファイル. (c) 表面電荷密度像. (d) (c)内線分 C-D に沿った表面電荷密度プロファイル.

[1] K. Umeda et al. *Nanotechnol*. **26**, 285103 (2015).
[2]木南他, 2015 年 第 76 回応用物理学会秋季学術講演会 15a-2A-9.
[3] J. Sotres et al. *Biophys. J.* **98,** 1995 (2010).

© 2017年 応用物理学会