FM-AFM による streptavidin 結晶上 biotin 修飾 DNA の可視化

Visualization of biotinylated DNA on streptavidin crystal using FM-AFM

京大院工　°前田 祥吾，木南 裕陽，小林 圭，山田 啓文

Dept. of Electronic Sci. & Eng., Kyoto Univ.

°S. Maeda, H. Kominami, K. Kobayashi, H. Yamada

E-mail: s.maeda@piezo.kuee.kyoto-u.ac.jp

周波数変調原子間力顕微鏡 (FM-AFM) 技術の進展により、生理環境下での生体分子の高分解能 FM-AFM 観察への応用が広がりつつある。streptavidin (SA) 分子は biotin 分子と特異的に結合し、biotin 修飾された脂質分子を含んだ脂質二重膜上で 2 次元結晶を形成することがよく知られている。SA 分子は mica 基板上にも 2 次元形成することが報告されており[1] 、これまでの研究により、SA 溶液注入時における mica 基板上での SA 2 次元結晶の形成・成長過程[2]、biotin 分子を注入した際に biotin 結合サイトがある結晶側面を起点に 2 次元結晶が無秩序化していく過程の観察に成功している [3]。一方、脂質二重膜上の 2 次元結晶も biotin 結合により無秩序化することが知られている[4]。脂質二重膜上の SA 結晶では biotin 結合サイトは結晶表面にあるが、biotin 分子の結合の有無を FM-AFM によって確認することは困難であり、まだ無秩序化過程の詳細は分かっていない。今回、単一の biotin 分子の代わりに、両端に biotin 修飾を施した二重鎖 DNA 分子 (biotin-DNA) を用いて biotin 吸着サイトを可視化することに成功した。本講演ではその詳細について報告する。

観察溶液として 1xTE + 20 mM $MgCl_2$ (溶液 A)を用い、脂質は DOPC : DOPS : biotin-cap DOPE = 7:2:1 で構成される 0.1 mg/ml 脂質溶液を用いた。mica 上に 0.1 mg/ml 脂質溶液を 100 µl 滴下後 30 分静置し、溶液 A でリンスを行い脂質二重膜を作製し、1 mg/ml SA 溶液を 20 µl 滴下後 20 分静置し、溶液 A でリンスを行い SA 2 次元結晶を作製し、さらに biotin-DNA 溶液を加えた。図 1(a)に示す表面形状像から、SA 結晶上に多数の biotin-DNA 分子が見られ(図中矢印)、末端は SA 分子に結合し中央部分は探針走査によって動かされていることが分かった。

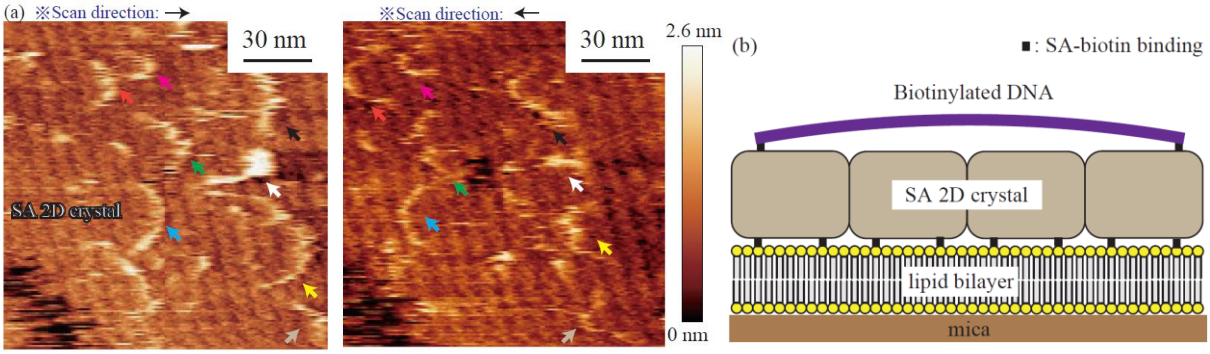

Fig. 1: Biotinylated DNA on SA 2D crystal on lipid. (a) Topographic images taken in 20 mM $MgCl_2$ diluted with TE buffer. (b) Schematic drawing of biotinylated DNA on SA 2D crystal.

[1] Daniel M. Czajkowsky et al., *ACSNano* **6**, 190 (2012).
[2] 濱田ら、2017 年第 64 回応用物理学会春季学術講演会、16a-301-8.
[3] 濱田ら、2016 年第 77 回応用物理学会秋季学術講演会、13a-B10-5.
[4] D. Yamamoto et al., *Nanotechnology* **19**, 384009 (2008).

© 2018年 応用物理学会