

液中 FM-AFM による DNA ナノワイヤの高分解能観察

High-resolution imaging of DNA nanowires by FM-AFM in aqueous solution

京大工¹, °熊谷 隼太郎¹, 木南 裕陽¹, 小林 圭¹, 山田 啓文¹

Dept. of Electronic Sci. & Eng., Kyoto Univ.¹, °S. Kumagai¹, H. Kominami¹, K. Kobayashi¹, H. Yamada¹

E-mail: shuntaro.kumagai@piezo.kuee.kyoto-u.ac.jp

DNA は液中で 2 重らせん構造(B-form)を形成することで知られるが、グアニンを豊富に含む塩基配列においては、G-tetrad(Fig. 1(a), 1(b))と呼ばれる通常と異なる結合を形成する。G-tetrad は 3-4 枚ほど連なることで、グアニン 4 重鎖構造(G4: G-quadruplex)を形成し、さらに自己組織的に多数の DNA が集合し、多くの G-tetrad が並ぶことでワイヤー状の G-wire (Fig. 1(c)) を形成する。G-wire は多様な構造を形成することから、DNA ナノテクノロジーの観点から注目を集めている[1]。われわれは、d(G₄T₂G₄)の塩基配列を持つ DNA から作製した G-wire の構造を、周波数変調原子間力顕微鏡(FM-AFM)を用いて評価した[2]。FM-AFM 観察像は、多様な G-wire の構造を示し、その一部は先行研究[1]のモデル構造とよく一致したものの、その他多くの構造についての同定は困難であった。本研究では、塩基配列の一部を変更し比較を行い、その差異から考えられる集合構造について報告する。

試料として、d(G₄T₄G₄)の塩基配列を有する一本鎖 DNA を用いた。50 mM KCl、10 mM MgCl₂ を含む 20 mM HEPES 溶液を用いて DNA の濃度が 50 μM となるよう希釈した。その溶液を 99.9°C まで加熱し、-1°C/min の勾配で 20°C まで冷却することで G-wire を作製した。Fig. 2(a)、2(b)に mica 基板上に堆積した G-wire の液中 FM-AFM 像を示す。Fig. 2(b)は、Fig. 2(a)と同じ G-wire を、探針をより近づけて観察した結果である。Fig. 2(a)には G-wire の軸に沿ってジグザグ状に輝点が見られるが、これは G-wire の外側に突出したチミンに対応すると考えられる。一方、Fig. 2(b)中の G-wire は軸に直交する方向に約 1.2 nm の周期で輝線(青矢印)が見られる。これは、G-wire を構成する DNA の糖-リン酸バックボーンに由来すると考えられ、両図の違いは、糖-リン酸バックボーンから外側に向けてチミンを突出させた G-wire の構造に対応していると考えられる。

[1] K. Bose et al. *Nat. Commun.* **9**, 1959 (2018).

[2] 熊谷ら, 第 67 回応用物理学会春季学術講演会 13a-A407-3.

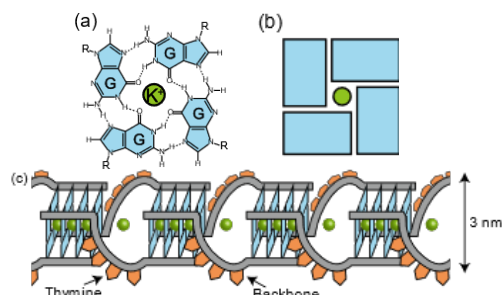


Fig. 1 (a) Structural model of G-tetrad. (b) Simplified image of (a). (c) Structural model of G-wire made from oligonucleotide d(G₄T₄G₄).

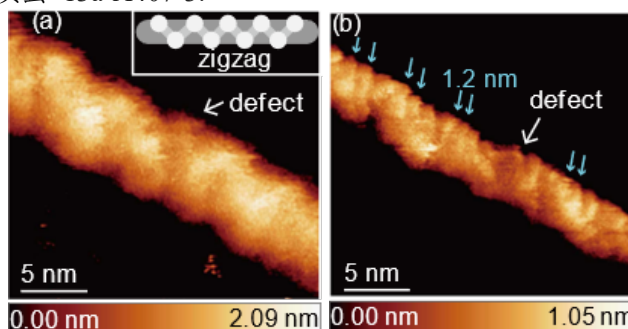


Fig. 2 AFM image of same G-wire in aqueous solution (50 mM NiCl₂). Distances between tip and sample were far at (a) and close at (b).