

DNA オリガミを用いたタンパク質分子の固定と AFM 表面形状測定への影響

Fixation of Protein Molecules using DNA Origami Template and the Influence on Topographic Imaging by AFM



京大工, ^{○(DC)}山本 悠樹, 木南 裕陽, 小林 圭, 山田 啓文

Kyoto Univ., ^{○(DC)}Y. Yamamoto, H. Kominami, K. Kobayashi, H. Yamada

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

多数の生体分子から構成される複雑な生体系を理解するためにはタンパク質など個々の構成要素について理解することが不可欠であり、原子間力顕微鏡(AFM)はこれら生体分子の単分子計測を可能にしている。AFMによる生体分子の計測には対象となる分子を基板へ固定する必要がある。生理的環境を保つためには分子の固定を弱くすることが求められるが、固定が弱すぎる場合、分子が持つゆらぎや測定時の分子の変形により、測定分解能の低下や測定誤差を引き起こす。本研究では、特定の位置にのみ分子を特異的結合させ、観察対象の分子をその他の吸着物と区別する上で有効な DNA オリガミ[1]を用いてタンパク質を基板に固定し、その固定状態の違いが AFM による表面形状測定に与える影響について、3次元フォースマッピングにより評価した。

測定対象分子として streptavidin(SA)タンパク質を用い DNA オリガミを用いて2つの固定状態を作製した (Fig. 1)。“in-SA”は DNA オリガミの窓内部に biotin 分子を修飾した DNA を設け、biotin-SA の特異的な結合能を用いて SA 分子を固定する方法であり、SA 分子は窓の下に露出したマイカに対しても非特異に吸着することから比較的強い固定と考えられる。対して “on-SA” は、DNA オリガミ上に biotin-SA の特異結合のみを用いて固定するため比較的弱い固定であると考えられる。これらの SA 分子に対し、3次元フォースマッピングにより測定を行なった。測定によって得られた3次元周波数シフトマップより再構成した等 Δf 像を Fig. 2 に示す。このうち、“on-SA”分子を含む領域について高さの確率密度分布を計算したヒストグラム (緑) を Fig. 3 に示す。一方、シミュレーションによって得られた表面形状像について同様に計算したヒストグラム (紫) では4 nm 付近にピークが現れているのに対し、実験結果のヒストグラムではピーク位置が約 2 nm 低くなっていることが分かった。“on-SA”分子は比較的弱く固定されていたため、測定の際に AFM の探針が分子を変形もしくは移動させていることを示唆している。

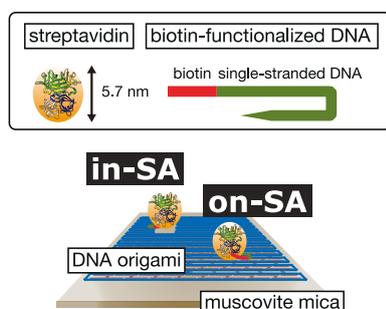


Fig. 1: Fixation of SA molecules using DNA origami template.

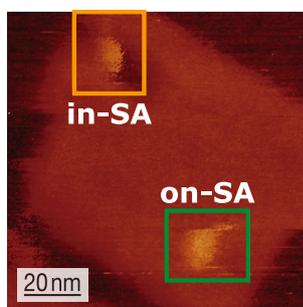


Fig. 2: Constant Δf image reconstructed from the 3D frequency shift map.

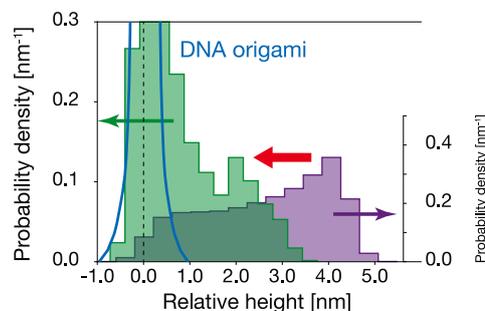


Fig. 3: Height histograms calculated from the experimental (green) and simulated (purple) topographic images.

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