

液中 FM-AFM による DNA G-wire イメージング

FM-AFM imaging of DNA G-wire in aqueous solution

京大工, °熊谷 隼太郎, 木南 裕陽, 小林 圭, 山田 啓文

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

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

DNA は溶液中で 2 重らせん構造を取ることで知られるが、グアニン (G) を含む特定の塩基配列が繰り返される領域 (染色体末端のテロメアなど) においては、G4 重鎖構造 (G4: G-quadruplex) を形成する。また、G4 は自己組織的に集合して 1 次元構造 G-wire (Fig. 1) を形成する。G-wire は、G4 構造が ALS 神経性疾患などと関連があることから病理学的観点において、また、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、G4 構造のモデル系として注目を集めている[1]。われわれは、これまでに周波数変調原子間力顕微鏡 (FM-AFM) を用いて、DNA 2 重らせん構造の高分解能観察や電荷密度計測などに成功している[2, 3]。本研究では、FM-AFM を用いて G-wire の高分解能観察を行い、その多様な配列構造に関する評価結果について報告する。

試料として、 $d(G_4T_2G_4)$ の塩基配列を有する 1 本鎖 DNA を用いた。50 mM KCl、10 mM $MgCl_2$ を含む 20 mM HEPES 溶液を用いて 50 μ M となるように DNA を希釈し、溶液を 99.9°C まで加熱し、その後 20°C まで $-1^\circ\text{C}/\text{min}$ で冷却して G-wire を作製した。Fig. 2 に、mica 基板上に堆積した G-wire の液中 FM-AFM 像を示す (50 mM $NiCl_2$)。図中の G-wire の軸に沿って周期的な輝点 (短い輝線) が観測されるが、これは G-wire の外側に突出するチミンに対応すると考えられる。興味深いことに、輝線の周期および軸に対する傾きはいくつか分類される (黄矢印: 3.3 nm・傾き負、青矢印: 4.3 nm・傾き正、緑矢印: 2.2 nm・傾き正)。ここで傾きの正負は、軸を上下方向として短輝線の傾きの符号を示す。この多様性は、吸着姿勢や構造の違いを反映していると考えられる。Fig. 3(a), (b) は、高分解能 FM-AFM 像および図中の A-B に沿った断面プロファイルを示す。Fig. 3(a) では、周期 4.0 nm (傾き正) の構造に加え、その間に周期 1.0 nm の微細構造 (水色矢印) が観察された。これは G-wire のリン酸基バックボーンに相当すると考えられる。

[1] K. Bose et al. *Nat. Commun.* **9**, 1959 (2018). [2] S. Ido et al. *ACS Nano* **7**, 1817 (2013).

[3] H. Kominami et al. *Sci. Rep.* **9**, 6851 (2019).

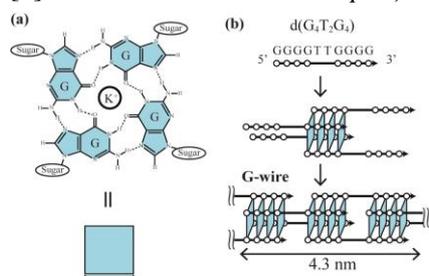


Fig. 1 Structural model of G-wires. (a) Simplified image of four Guanines. (b) G-wire formation from $d(G_4T_2G_4)$.

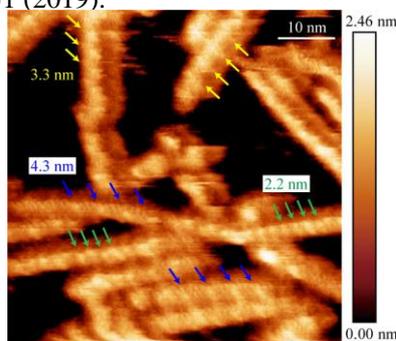


Fig. 2 AFM image of G-wires in aqueous solution (50 mM $NiCl_2$).

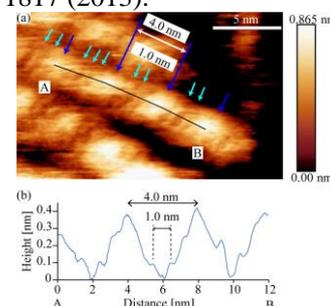


Fig. 3 (a) High-resolution AFM image of G-wires in aqueous solution (7.2 mM $NiCl_2$, 25mM KCl, 10 mM HEPES). (b) Cross-sectional profile along the line A-B in (a)