

FRET ネットワークに基づく多種蛍光信号の生成

Generation of diverse fluorescence signals based on FRET networks

阪大院情¹, 阪大院工² ○井上 仁哉¹, 西村 隆宏², 小倉 裕介¹, 谷田 純¹

Grad. Sch. IST, Osaka Univ.¹, Grad. Sch. Eng., Osaka Univ.²,

○Jinya Inoue¹, Takahiro Nishimura², Yusuke Ogura¹, and Jun Tanida¹

E-mail: j-inoue@ist.osaka-u.ac.jp

蛍光顕微鏡は生体分子の形状や動きを可視化するために有用である。生体分子を蛍光標識することで、生体分子の情報を蛍光信号に変換でき、情報の扱いが容易になる[1-3]。しかし、同時に観察可能な生体分子の種類は、一般に蛍光標識の種類と同数であり、かつ蛍光標識のスペクトルの重なりにより制限される。そのため、より多種の生体分子を同時に符号化する手法が求められている。我々は、簡易に多種の蛍光信号を生成するため、DNA 上での蛍光分子の配置の違いに基づく手法を検討している。本研究では生成信号の多様性を検証した。

本手法ではフェルスター共鳴エネルギー移動 (FRET) を利用し、蛍光信号として多様な蛍光スペクトルを取得する。DNA 構造を用いて蛍光分子を 1 nm オーダー間隔で配置し、Fig. 1 のように蛍光分子全体で FRET ネットワークを構築する。蛍光分子の配置を調整することで、同じ蛍光分子の組み合わせから蛍光分子の種類以上の異なる蛍光スペクトルを生成できる。また FRET を用いることで、単一の励起光のみを用いて簡易に多様な蛍光スペクトルを取得できる。

実験では 4 種類の蛍光分子 Alexa488 (B), Alexa532 (G), Alexa568 (Y), Cy5 (R) を 1 つずつ Fig. 2 の DNA 構造上の各番号位置に配置した。全 24 通りの異なる蛍光分子の配置をもつサンプルに対し、最も励起波長が短い Alexa488 を波長 450 nm のレーザー光で励起して蛍光スペクトルを測定した。取得したスペクトル中の蛍光分子の蛍光ピーク強度の一例を Fig. 3 に示す。4 種類ある蛍光分子のうち、Alexa488 と Cy5 の蛍光ピーク強度をプロットした。同じ蛍光分子の組を使用しているにもかかわらず、構成される FRET ネットワークの違いにより、異なる蛍光スペクトルが得られている。さらに、異なる蛍光配置の DNA 構造体が同時に存在する場合のそれぞれの配置を、各構造体単独の蛍光スペクトルを基に推定した。実験により蛍光配置を正しく推定でき、蛍光信号の多重化が可能であることがわかった。

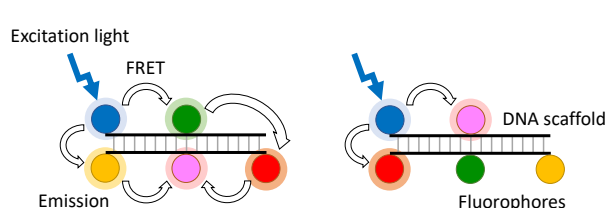


Fig. 1: Construction of various FRET networks by layouts of fluorophores arranged on a DNA nano-structure.

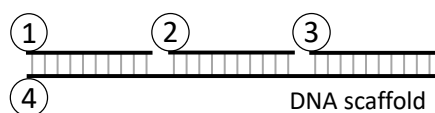


Fig. 2: DNA nano-structure used in the experiment.

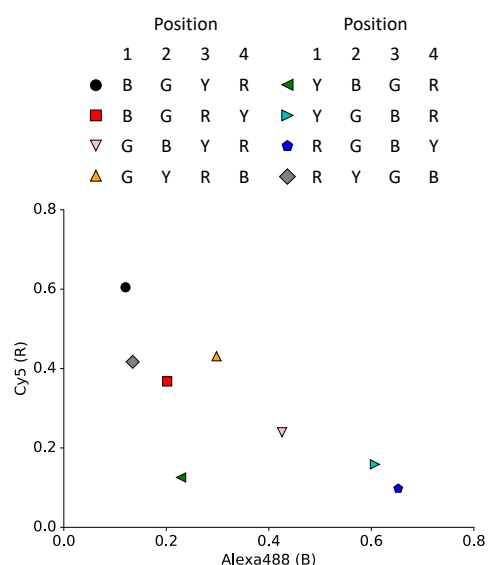


Fig. 3: Some examples of fluorescence peak intensities in the measured spectra.

[1] C. Lin *et al.*, *Nature Chemistry*, Vol. 4, No. 10, pp. 832-839 (2012)

[2] L. Zhang *et al.*, *Applied Materials & Interfaces*, Vol. 8, No. 21, pp. 13187-13191 (2016)

[3] B. Andreiuk *et al.*, *Small*, Vol. 13, No. 38, 1701582 (2017)