

液中 FM-AFM による DNA オリガミの構造解析

Investigation of DNA Origami Structure using FM-AFM in Aqueous Solution

京大工, °山本 悠樹, 木南 裕陽, 小林 圭, 山田 啓文

Kyoto Univ., °Yuki Yamamoto, Hiroaki Kominami, Kei Kobayashi, Hirofumi Yamada

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

生理的環境における生体分子の微細構造を直接評価できる原子間力顕微鏡 (AFM) は生体機能の微視的メカニズムの解明において非常に有力な手法である。われわれは最近、DNA オリガミ[1]を用いた生体分子固定化法により、対象分子を孤立状態で基板に固定できることを示した[2]。しかしながら、これまでの DNA オリガミの設計は、DNA オリガミ内の DNA が全て B 型構造をもつという単純な仮定のもとに行われており、固定分子の位置や配向を正確に決定するためには DNA オリガミのより精密な詳細構造を反映させる必要がある。本研究では、液中周波数変調 AFM (FM-AFM)を用いて DNA オリガミの構造を詳細に解析することにより、DNA オリガミの設計と作製された実際の構造との対応関係を明らかにした。

本研究で用いた DNA オリガミを Fig. 1 に示す。DNA オリガミ中央部に分子固定部を想定した長方形の窓を設けており、窓枠の両端は 3 つの 64 塩基の DNA 鎖 (赤、黄、緑) で架橋されている。架橋した DNA 鎖は”純粹”な B 型 DNA の 2 重らせん構造を形成するため、DNA オリガミの構造評価の基準とした。Fig. 2 に DNA オリガミの高分解能 FM-AFM 像を示す。DNA 鎖の交差による特徴的な網目状の構造に加え、DNA オリガミ全体にわたって 2 重らせん構造に由来する周期的な構造 (主溝・副溝) が観察された。像の一部を拡大すると (Fig. 3)、DNA 鎖が交わる箇所に 4 つの輝点が現れ、輝点の間隔の違いより、構造中に 2 種類のホリデイ構造 (Holliday junction (HJ))[3] が形成されていることがわかる。このような構造は先行研究で既に予測されていたが[1]、生理的環境で実験的に確認された例はなく、液中 FM-AFM 観察・解析によって、DNA オリガミがこの予測に一致する構造を持つことを実験的に示すことに成功した。

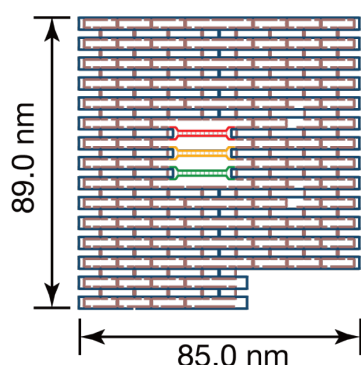


Fig. 1: Design of a DNA origami. Red, yellow, and green colored DNAs form common B-DNA structures.

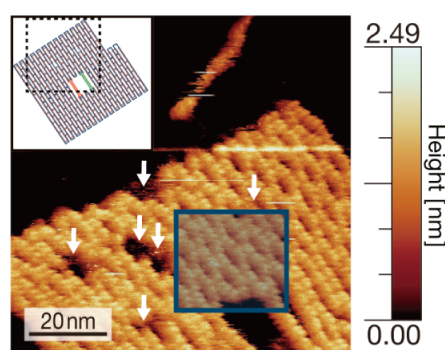


Fig. 2: Topographic image of the DNA origami. The white arrows show the defects caused by the lack of the staple DNAs.

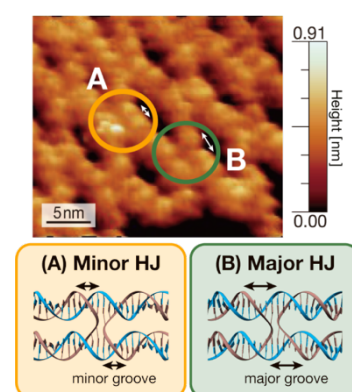


Fig. 3: Enlarged image of the blue rectangular area in Fig. 2. The circles ('A' and 'B') show two types of Holliday junctions (HJs).

- [1] P. W. K. Rothmund, *Nature*, **440**, 297 (2006). [2] Y. Yamamoto et al., *Jpn. J. Appl. Phys.* **59**, SIII03 (2020). [3] R. Holliday, *Genet. Res.* **5**, 282 (1964).