バーチャル電極による YOYO-1 標識 DNA の蛍光増強

Fluorescence enhancement of YOYO-1-labeled DNA induced by the virtual cathode

弘前大院理工¹°(M2)佐々木 建¹, 星野 隆行¹

Hirosaki Univ. Grad. Sch¹, °Ken Sasaki¹, Takayuki Hoshino¹

E-mail: thoshino@hirosaki-u.ac.jp

分子間相互作用メカニズムの解析において、分子間の動的な振る舞いと生物学的な機能を評価する 技術は不可欠である.特に,YOYO-1は,二本鎖 DNA の塩基対間に物理的に挿入されると蛍光を強め る多価カチオン性のインターカレーターとして DNA 構造体における機械的構造の設計と評価に広く 利用されている[1]. これまでに DNA と YOYO-1 との結合メカニズムの解明と結合状態の制御につい て数多くの検証が行われてきたが,未だ決定打となる工学手法の確立には至っていない[2].そこで 我々は,先行研究より開発したバーチャル電極を用いて YOYO-1 標識 DNA の蛍光応答を観察し,バ ーチャル電極の適用によって蛍光が一時的に退色した後,緩やかに増強する現象が確認されている[3]. 本研究では,バーチャル電極のビーム電流量が YOYO-1 標識 DNA に与える影響を調査した.加え て,DNA 塩基対に対する YOYO-1 分子の比率を変え,濃度による過渡応答性の違いを観察した.

カチオン性ポリマーであるポリエチレンイミンをコートした窒化ケイ素薄膜表面上に lambda DNA を静電気的に吸着させた後, YOYO-1 で標識することで試料を調製した(Fig.1). DNA 塩基対濃度, YOYO-1 濃度をそれぞれ 0.7 µMbp, 0.14 µM で結合させた試料を用いたところ, いずれのビーム電流 でも蛍光増強が生じ,電流値が大きくなるとともに 10 分後の蛍光増強が小さくなった (Fig. 2). また, YOYO-1 濃度が 1.4 µM の方が 0.14 µM の場合に比べ, いずれのビーム電流値においてもより顕著な 蛍光増強が確認された. 先行研究において, DNA の塩基対濃度に対する YOYO-1 の濃度が高いとき, 二量体である YOYO-1 の片末端のみが塩基対間に挿入される中間状態(mono-intercalation)をとりや すいことが報告されている[2]. このことから, バーチャル電極の適用によって,帯電した適用表面と 標的 DNA との静電気相互作用が変化し, YOYO-1 の両末端が挿入される結合状態(bis-intercalation) へ遷移した可能性と, DNA の立体構造がよりコンパクトに折り畳まれることで蛍光増強した可能性と が考えられる.



Fig. 1 Scheme of an interface between a polyethyleneimine (PEI) -coated silicon nitride (SiN) membrane YOYO-1-labeled DNA adsorbed and TE buffer solution during irradiating an electron beam (EB).



Fig. 2. Distribution plot of Fluorescence intensity of in ROIs at different conditions of YOYO-1 concentration and EB current. fluorescence images were obtained (a) immediately before and (b) after 10 min from irradiating EB, respectively.

参考文献

- [1]. Stassi ... et al, Nat. Commun, vol. 10, 1690, 2019
- [2]. Murade, C. U ... et al, Biophys J, vol. 97, 835-843, 2009
- [3]. Hoshino...et al, Abstract of 29th International Microprocesses and Nanotechnology Conference, 2016