

DNA リンカーを介した BRET システムの生体分子検出法への応用

(関西大化学生命工) ○仁木 智哉・高野 史章・葛谷 明紀

Application of BRET system via DNA linker to detection systems for biomolecules

(Department of Chemistry and Materials Engineering, Kansai University) ○Niki Tomoya, Fumiaki Takano, Akinori Kuzuya

We have succeeded in inducing efficient BRET by using two complementary strands of DNA as a linker and localizing them in the vicinity by modifying their ends with a luciferase and a fluorescent dye.

In this study, we investigated target detection of biomolecules such as single-stranded nucleic acid as a practical application of this system. We particularly focused on DNA origami, which is a nanoscale structure made by folding long single-stranded cyclic DNA with short single-stranded DNA. One of the DNA origami developed in our laboratory is DNA Pliers, which is a nanometer-sized movable structure shaped like pliers. The DNA Pliers are equipped with ligands that react and bind only to a specific target molecule, and upon binding, the DNA Pliers can pinch only one target molecule and close. In this study, we constructed a BRET system on DNA Pliers and succeeded in inducing BRET triggered by the structural change of DNA Pliers.

Keywords : DNA, DNA origami, Bioluminescence Resonance Energy Transfer

当研究室ではこれまでに、リンカーとして相補鎖な二本の DNA 鎖を用い、その末端に発光タンパク質と蛍光色素を修飾することで近傍に局在化させ、効率的な BRET を誘導することに成功している。

本研究ではこのシステムの実用的な応用例として、一本鎖核酸を始めとする生体分子のターゲット検出を目指した。特にその方法として、DNA origami に注目した¹⁾。DNA origami とは長い一本鎖環状 DNA を短い一本鎖 DNA で折りたたんで作製するナノスケールの構造体のことである。当研究室が開発した DNA origami のひとつにペンチのような形をしたナノメートルサイズの動く構造体である DNA Pliers がある²⁾。この DNA Pliers は、well 部分に特定の標的だけに反応して結合する物質を取り付けることで、標的となる分子が存在すると 1 分子だけペンチのように挟み、閉じることができる。本研究では、DNA Pliers 上で BRET システムを構築し、DNA Pliers の構造変化をトリガーとした BRET 誘導に成功した。

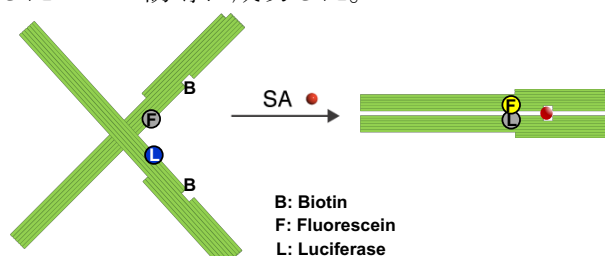


Fig.1 Schematic illustration of the system.

1) P. W. K. Rothmund, *Nature* **2006**, 440, 297-302.

2) A. Kuzuya, *et al.*, *Nature Commun.* **2011**, 2, 449.