

静電相互作用を駆動力としたストレプトアビジン-ssDNA ハイブリッド結晶形成に与える正電荷密度の影響

○長谷彩沙¹・南畑孝介¹・若林里衣¹・後藤雅宏^{1,2}・神谷典穂^{1,2} (1 九大院工、² 九大未来化セ)

Effect of positive charge density on streptavidin-ssDNA hybrid crystal formation driven by electrostatic interaction (Graduate School of Engineering, Kyushu University¹, Division of Biotechnology, Center for Future Chemistry, Kyushu University²) NAGATANI, Ayasa; Minamihata Kosuke¹; WAKABAYASHI, Rie¹; GOTO, Masahiro^{1,2}; KAMIYA, Noriho^{1,2}

【緒言】タンパク質と DNA は、生物を構成する主要な生体高分子である。DNA の持つ相補鎖形成能やアジュバント特性、タンパク質の有する多様な機能を組み合わせることで、診断や治療など様々な用途での利用が可能となる。一方、タンパク質との共集合体形成に DNA の相補鎖形成能が積極的に用いられている場合、DNA の機能性を十分に活かさない可能性がある。そこで本研究では、タンパク質と一本鎖 DNA (ssDNA) を非共有結合的に自己集合させ、DNA の機能が保持された新規バイオ材料を構築することを目的とした。最近、正電荷ペプチドタグ (R₆Y) を C 末端に導入したストレプトアビジン (以下 SA-R₆Y) と、ssDNA を混合するだけで両者の共結晶が得られることが報告された¹)。本手法は DNA の二本鎖形成に依存しないため、共結晶中に機能性 ssDNA を保持できる可能性があるが、タンパク質および ssDNA の特性が共結晶化に与える影響は未解明である。本検討では、正電荷ペプチドタグの長さが共結晶形成へ及ぼす影響を検討するため、R₄Y を導入した SA (以下 SA-R₄Y) を新たに調製し、共結晶化実験を行った。また、共結晶内の ssDNA の相補鎖形成能を確認した。

【実験方法】 SA-R₄Y、SA-R₆Y と各種 ssDNA の終濃度が 10 μM となるよう、10 mM Tris-HCl (pH 8.0) で調製した。ここでは、1 種類の塩基 (A, T, G, C) のみで構成される 7~12, 20, 40 base の ssDNA を使用した。調製した水溶液を 25 °C で一晩静置した後、顕微鏡観察を行った。

【結果及び考察】 Fig.1 に T のみで構成された ssDNA (ssDNA (T)) を用いて、SA-R₄Y と SA-R₆Y の共結晶形成実験を行った結果を示す。SA-R₄Y のみ、全ての長さの ssDNA (T) と共結晶を形成することが確認された。SA-R₄Y は SA-R₆Y と比較すると、ssDNA との間に働く静電相互作用が弱くなる。その結果、SA-R₄Y と DNA の両者および SA-R₄Y 同士の間の相互作用の可逆性が増し、結果的に結晶形成が促進されたと考えられる。

続いて、ssDNA の相補鎖形性能を確認するため、結晶内 ssDNA と相補的な ssDNA に蛍光分子を修飾した FL-ssDNA を用いて実験を行なった。その結果、相補鎖の ssDNA を含む共結晶は蛍光を呈し、相補鎖形成能が維持された画分の存在が明らかとなった。以上のことから、正電荷ペプチドタグの鎖長は共結晶形成において重要な因子であり、共結晶中の ssDNA の機能の保持が可能なが確認された。

【参考文献】 1) K. Minamihata, et al., *Chem. Commun.*, **27**, 3891-3894(2020)

【謝辞】本研究は、JSPS 科研費 JP18K14067, JP22H01884 の助成を受けたものです。

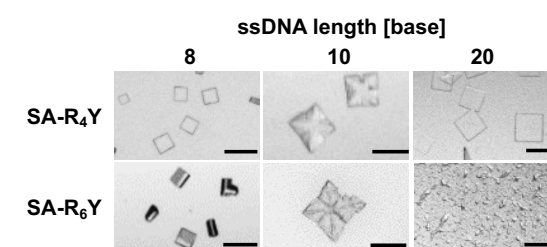


Fig. 1 SA-R₄Y 及び SA-R₆Y と ssDNA (T) による共結晶化 (bars: 100μm)