「ぶんせき」トッピクス原稿

『1分子FRETと2-color 2D FLCSによる核酸のマイクロ秒構造変化ダイナミクスの検出』

1分子FRETと2-color 2D FLCSによる核酸のマイクロ秒構造変化ダイナミクスの検出

生体分子の構造変化を検出するための方法として，Förster共鳴エネルギー移動（FRET）は不可欠な技術である．これにはドナー−アクセプターペアと呼ばれる1ペアの蛍光色素が利用される．これらが近接して存在しているとき，ドナーが励起されるとそのエネルギーがアクセプターへと移動しアクセプターが励起される．この効率は蛍光色素間の距離に大きく依存するため，単一分子のFRETである１分子FRET（smFRET）では距離に関する情報から生体分子の構造の変化を検出できる1)．

smFRETの計測の手法としては，二次元蛍光寿命相関分光法（2D FLCS）が挙げられる．これは試料をパルスレーザーで励起した際に放出される光子の時間に関する情報を利用するものである．蛍光寿命（蛍光分子が励起されてから光子を放出して基底状態に戻るまでの時間）の二次元マップが得られ，単一分子レベルで生体分子の不均一性や高い時間分解能での構造変化を検出できる2)．この方法ではドナーの蛍光由来の光子の情報を利用するが，FRETによってドナーの蛍光寿命は短くなるため蛍光の検出可能性が低くなっていた．そこで，Chengらはアクセプターの蛍光由来の光子の情報が利用できるように拡張された2-color 2D FLCSという方法を開発し，これを用いて核酸の構造変化ダイナミクスに関する定量的な議論を行なった3)．5’末端および3’末端がFRETのドナー−アクセプターペアとなる蛍光色素で標識されたヘアピン形成配列を持つ一本鎖RNAおよびDNAについて，smFRETを検出するため2-color 2D FLCSが行われた．その結果，RNAおよびDNAの両方についてアクセプターが欠損した分子，ヘアピンが‘open’な分子，‘closed’な分子の3種類の状態に割り当てられる3つの独立した蛍光成分が得られた．同じデータはfiltered FCS4)という方法でも解析され，RNAおよびDNAのヘアピン構造の形成・解離速度に関する情報が得られた．結果として，ヘアピン形成速度には大きな差が見られなかった一方で解離速度はDNAの方が10倍以上大きいということが報告されている．

このように高い時間分解能で smFRETを検出することは1分子レベルで生体分子の構造ダイナミクスを解明するのに非常に有効であり，今後も多くの知見をもたらすことが期待される．

1) D. K. Sasmal, L. E. Pulido, S. Kasal, J. Huang : *Nanoscale*, **48**, 19928 (2016).

2) K. Ishii, T. Tahara : *J. Phys. Chem. B*, **117**, 11414 (2013).

3) C. Cheng, K. Ishii, T. Tahara : *J. Phys. Chem. B*, **124**, 10673 (2020).

4) S. Felekyan, S. Kalinin, H. Sanabria, A. Valeri, C.A.M. Seidel : *ChemPhysChem*, **13**, 1036 (2012).

〔大阪公立大学大学院工学研究科 田中優仁, 許岩〕