

周波数変調方式 AFM を用いた IgG 抗体分子会合体の抗原認識能評価

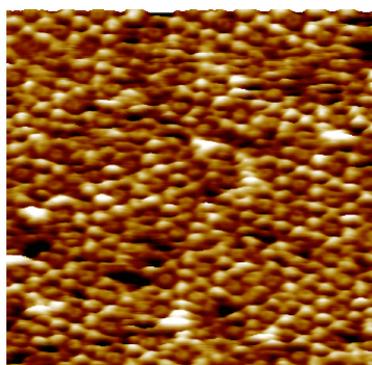
Immunoactivity of IgG Antibody Assembly Investigated by FM-AFM

京大院工¹, パナソニック(株)², 京大白眉セ³°木南 裕陽¹, 井戸 慎一郎¹, 木宮 宏和², 小林 圭^{1,3}, 山田 啓文¹Dept. of Electronic Sci. & Eng., Kyoto Univ.¹, Panasonic Corp.², The Hakubi Center, Kyoto Univ.³°H.Kominami¹, S. Ido¹, H.Kimiya², K. Kobayashi^{1,3}, H. Yamada¹

E-mail: h.kominami@piezo.kuee.kyoto-u.ac.jp

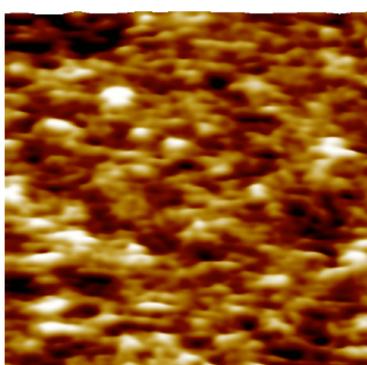
【はじめに】原子間力顕微鏡 (Atomic Force Microscopy: AFM) は生理環境条件に近い溶液中において DNA やタンパク質、脂質分子などの生体分子をナノスケール分解能で観察でき、生体機能を分子レベルで解明する上で非常に有用である。われわれは液中で動作する周波数変調 (Frequency Modulation: FM) 方式 AFM (FM-AFM) を用いて、bacteriorhodopsin 分子や plasmid DNA 分子の液中高分解能観察に成功している[1]。前回の報告ではマウス由来のモノクローナル抗体 (Immunoglobulin G: IgG) が特定の電解質溶液中でマイカへき開面に会合体 (6 量体) の 2 次元結晶を形成することを発見し、その高分解能観察について報告した[2]。今回、2 次元結晶中の抗体の特定の抗原との認識機能を保持しているかどうか、抗体の 2 次元結晶上に様々な抗原分子を吸着させ、特異吸着の有無について FM-AFM および蛍光顕微鏡を用いて評価した結果について報告する。

【実験方法と結果】試料としてマウス由来のヒト血清アルブミン (Human Serum Albumin: HSA) を抗原とするモノクローナル抗体 (anti-HSA IgG1, 約 0.3 μM)、蛍光標識 (Fluorescein Isothiocyanate: FITC) を付与した HSA (FITC-HSA, 約 2.7 μM) を用いた。観察溶液は 50 mM MgCl_2 、10 mM Phosphate Buffer Solution, pH 7.5 を使用した。本実験においては、へき開したマイカ基板の上に抗体分子 (約 0.3 μM) を滴下し、液中 FM-AFM 観察を行い 2 次元結晶の形成を確認した後、FITC-HSA を (約 2.7 μM) を滴下し、5 分間静置した。その後、吸着していない分子を取り除くために観察溶液で 5 回リンスし、再び液中 FM-AFM 観察を行った。Figs. 1, 2 にそれぞれ FITC-HSA を作用させる前後で液中 FM-AFM 観察を行った結果を示す。Fig.1 においては構造的な乱れがあるものの、基本的には IgG 分子が 2 次元結晶化していることがわかる。一方、FITC-HSA 滴下後の Fig.2 においては 2 次元結晶表面に多数の吸着物が確認された。それぞれの FM-AFM 像における基板表面からの高さヒストグラムを Fig.3 に示す。抗原が吸着したことによって試料の高さが変化していることが確認できた。これは FITC-HSA が抗体分子に吸着し 2 次元結晶の表面をほぼ覆っているためと考えられる。



50 nm

Fig.1: HSA を抗原とするモノクローナル抗体分子 2 次元結晶の液中 FM-AFM 像 (50 mM MgCl_2 , 10 mM リン酸緩衝液).



50 nm

Fig.2: FITC-HSA を吸着させた後の抗体分子 2 次元結晶の液中 FM-AFM 像 (50 mM MgCl_2 , 10 mM リン酸緩衝液).

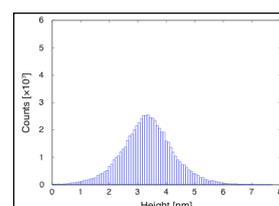
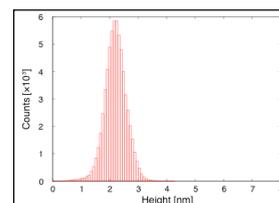


Fig. 3 上図: Fig.1 における基板表面からの高さのヒストグラム. 下図: Fig.2 における基板表面からの高さのヒストグラム.

[1]S.Ido et al, ACS Nano 7, 1817 (2013). [2]井戸他, 2011 年秋季 第 72 回応用物理学会学術講演会, 1a-V-7.