

微小管表面のリガンド結合部位を可視化するサブ分子分解能 AFM 計測法

Direct Visualization of Individual Ligand Binding Site of Tubulins by

Submolecular-Resolution Atomic Force Microscopy

¹⁾金沢大学、²⁾浜松医科大学 [○]片桐由智¹、浅川雅¹、池上浩司²、瀬藤光利²、福岡剛士¹

[○]Yukitoshi. Katagiri¹, Hitoshi. Asakawa¹, Koji. Ikegami², Mitsutoshi. Setou² and Takeshi. Fukuma¹,

¹Kanazawa Univ. and ²Hamamatsu Univ. School of Medicine

yukitosi@stu.kanazawa-u.ac.jp

生体分子はタンパク質や有機低分子と結合することにより高度な機能を発現する。このため、タンパク質-有機低分子複合体を液中で実空間観察することは分子生物学や創薬にとって重要である。原子間力顕微鏡 (AFM) は表面構造を直接観察できる計測手法であり、液中でも計測可能なため生体分子計測への応用が期待できる。しかし、液中では分解能が低下するという問題があり、ナノスケールの有機低分子がタンパク質に結合している様子を直接観察することは困難であった。近年、周波数変調 AFM (FM-AFM) の技術改良により液中でも、原子・分子分解能観察が可能となった。本研究では、チューブリン分子集合体である微小管に有機低分子であるタキソールを導入して、タンパク質に結合している様子を FM-AFM で可視化する際の課題について検討した。

細胞骨格の一つである微小管は、チューブリンヘテロ二量体が直線状に結合し、それらが水平方向に集合した構造を有している (Fig. 1(a))。タキソールは β -チューブリンに特異的に強く結合することで微小管の脱重合を阻害するリガンドであり、細胞増殖を抑制する効果から抗ガン剤として利用される。 α -、 β -チューブリンは構造が類似しており、従来、分子スケールで特定することは困難であった。本研究では、サブナノメートル分解能 FM-AFM 計測とその詳細な解析により、 α -、 β -チューブリンの同定に初めて成功した。さらにタキソール結合部位を直接確かめるため蛍光分子をタキソールに結合させた蛍光タキソールを導入して FM-AFM 観察を行った (Fig. 1(b))。蛍光タキソールを導入していない微小管 (Fig. 1(c)) と比較すると構造的な類似点が見られる。一方、Fig. 1(c) の AFM 像にはない突起状構造が蛍光タキソールを導入した微小管には確認できる (Fig. 1 丸印)。この間隔は β -チューブリンの周期に相当することから微小管表面の蛍光タキソールを可視化できたとと言える。以上の結果より、本研究では、FM-AFM を用いたサブナノメートル分解能計測によって、 α -、 β -チューブリンの同定とタンパク質-有機低分子複合体の実空間観察が可能であることを示した。

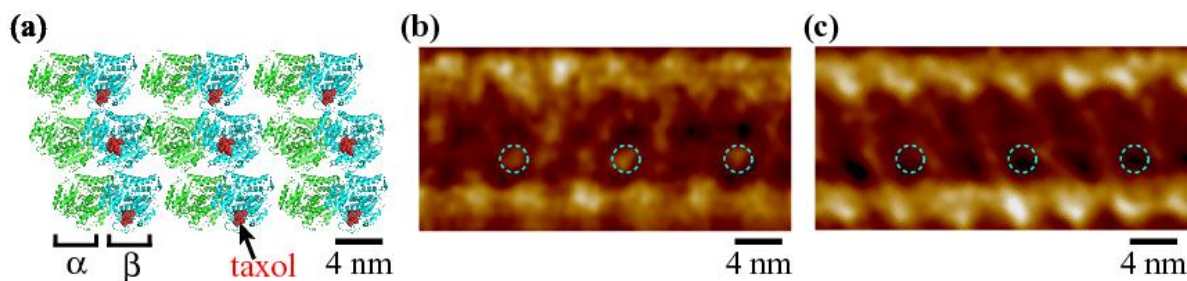


Fig.1 (a) Illustration of tubulin sheet structure. AFM images of tubulin sheet structures with fluorescent-taxol (b) and taxol (c)