28p-G16-4

カーボンナノチューブを用いた単一生体分子相互作用力計測

Single Molecule Analysis of Protein-Protein Interaction Using Carbon Nanotubes

阪大院工 [1]，京大院生命 [2]，岐大院工 [3]，○佐野 利樹 [1]，Shahbaz Khan[1]，中野 雅博 [1]，平原 佳織 [1]，
吉村 成弘 [2]，大野 敏 [3]，横川 隆志 [3]，中山 喜萬 [1]
Osaka Univ. [1], Kyoto Univ. [2], Gifu Univ.[3], ○Toshiki Sano[1], Shabaz Khan[1], Masahiro Nakano[1],
Kaori Hirahara[1], Shige H. Yoshimura[2], Satoshi Ohno[3], Takashi Yokogawa[3], Yoshikazu Nakayama[1]
E-mail: sano@ne.mech.eng.osaka-u.ac.jp

はじめに　生体分子の一分子レベル計測は、分子ごとに個体差を持つ生体分子の特性を調べるうえで非常に重要な意味を持つ。直径数 nm に先鋭化したカーボンナノチューブ（CNT）を原子間力顕微鏡（AFM）のプローブとして用いることにより、タンパク質一分子を捕らえることができる。本研究では、CNT プローブ先端および、樹脂に埋め込んだブラシ状単層 CNT（CNT シート）の先端にそれぞれ異なるタンパク質を一分子捕捉し、両タンパク質間に働く相互作用を調べた。

実　験　モデルタンパク質にカルモジュリン（CaM）を用いた。その 80 番目の位置にアンバー変異によりアジドチロシンを導入し、これを介して部位特異的に CNT プローブ先端に捕捉した。CNT シート側の CNT 先端にはシアン蛍光タンパク質を融合した CaM 結合ペプチド（ECFP-CBP）を非特異的に捕捉した。AFM 内で両タンパク質を吸着・破断させフォースカーブを計測し相互作用を解析した。

結果と考察　Fig.1 は負荷速度 4000pN/s における破断力のヒストグラムである。26.7pN と 57.3pN にそれぞれピークをもつ分布を得た。大きい値は両タンパク質間の特異的な相互作用であり、小さい値は非特異的相互作用を示すと判断できる。後者は ECFP-CBP を姿勢制御せずに CNT シートに補足したことによる。なお、破断力が負荷速度の対数に比例することを確認した。Fig.2 は特異的な相互作用を示すフォースカーブから求めた延伸長のヒストグラムである。6.7nm および 14.1nm にピークがある。CaM は 2 つの球状ドメインを両端に持ちそれらがヘリックスによって繋がれたダンベル型構造を持つ。期待できる延伸長はヘリックス部で数 nm、ドメイン部で 10 数 nm である。これから、球状ドメイン部分の一部あるいはほぼ全体が伸びて、破断に至るといえる。ただし、延伸長と破断力の間には相関がない。

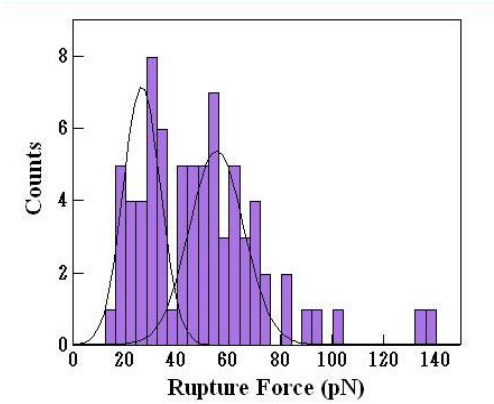

Fig. 1. Histogram of the rapture force for the interaction of CaM with ECFP-CBP at a loading rate of 4000 pN/s.

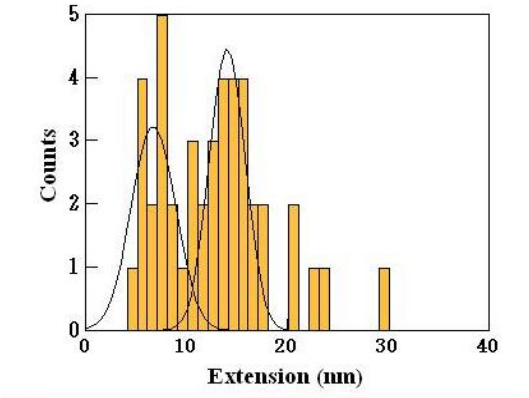

Fig. 2. Histogram of the extension length obtained from the force curve showing the interaction force ranging from 40 to 85 pN of CaM with ECFP-CBP at a loading rate of 4000 pN/s.

© 2013 年　応用物理学会