

## 液中 FM-AFM による免疫グロブリン M (IgM) 構造評価

## High-resolution Imaging of IgM by FM-AFM in Aqueous Solution

京大院工<sup>1</sup>, 京大白眉セ<sup>2</sup>○黄 雲飛<sup>1</sup>, 木南 裕陽<sup>1</sup>, 小林 圭<sup>1,2</sup>, 山田 啓文<sup>1</sup>Dept. of Electronic Sci. & Eng., Kyoto Univ.<sup>1</sup>, The Hakubi Center, Kyoto Univ.<sup>2</sup>○Y.Huang<sup>1</sup>, H.Kominami<sup>1</sup>, K. Kobayashi<sup>1,2</sup>, H. Yamada<sup>1</sup>

E-mail: huang.yunfei@piezo.kuee.kyoto-u.ac.jp

【研究背景】液中動作周波数変調原子間力顕微鏡 (FM-AFM) は、非破壊での液中高分解能観察が可能なることから、生体分子の *in vivo* 直接観察に広く応用されつつある。われわれは、DNA 二重らせん構造の液中観察[1]や、免疫グロブリン G (IgG) 抗体分子の高分解能観察およびその 6 量体形成過程の観察[2]に近年成功した。従来、多量体化する抗体分子としては IgM、IgA が知られるが、特に初期免疫過程を担う IgM の多量体構造については多くの研究がなされてきた。本研究では、この IgM 抗体分子の多量体構造に着目して、その高分解能観察を試みた。IgM 抗体分子は、一般的には 5 量体 (図 1) として存在するが、他の構造 (6、4、3 量体) の存在も報告されている[3]。一方、AFM による IgM 抗体分子観察は、これまでも多くの研究グループによって行われているが[4]、液中生理環境下での観察は極めて少ない。今回、ヒト血清由来の IgM 抗体分子を用いて液中 FM-AFM 観察を行った。

【実験方法と結果】ヒト血清由来の IgM 試料原液をリン酸緩衝液によって 50 倍希釈し、へき開したマイカ基板上へ、観察溶液 (50 mM NiCl<sub>2</sub>) とともにそれぞれ 5 μl を滴下し、5 分間静置した。その後、観察溶液を用いて 5 回リンスを行ってから、液中 FM-AFM 観察を開始した。図 2 は、広域走査 (約 400 nm) における IgM 抗体分子の液中 FM-AFM 像を示す。輝点を中央にもち、その周囲に複数の低く小さな領域を有する構造は、モデルと酷似しているところから、IgM 5 量体と考えられる。図 3 は、図 2 中の青い円で囲まれた IgM 5 量体の拡大像で、5 量体構造が明瞭に示されている。図 4 は、図 3 の線分 A-B に沿った断面プロファイルであり、中央部は約 5 nm、周囲の低い領域は約 3 nm で、先行研究の結果と一致した。

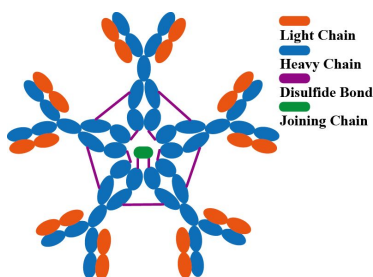


図 1 : IgM 5 量体のモデル図。5 量体は、軽鎖、重鎖、J 鎖とジスルフィド結合によって構成される。

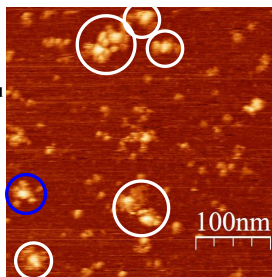


図 2 : IgM 抗体分子の液中 FM-AFM 像。円で囲まれた部分は IgM 5 量体と考えられる。

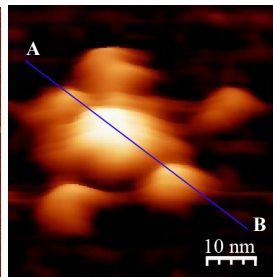


図 3 : 図 2 中の青い円で囲まれた領域の拡大像。中央部と周囲の 5 つの領域によって構成される。

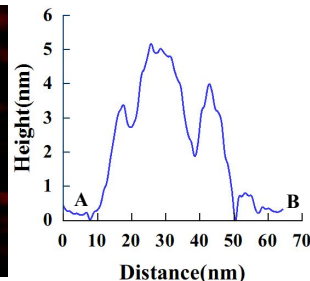


図 4 : 図 3 内の線分 A-B における断面プロファイル。

[1]S.Ido et al. *ACS Nano* **7**, 1817 (2013). [2]S.Ido et al. *Nature Mater.* **13**, 264 (2014).

[3]Erik J. Wiersma et al. *The Journal of Immu.* **160**, 5979 (1998). [4]Ali Makkya et al. *Sens. & Actu. B* **162**, 269 (2012).