19a-E17-7

タンパク質集合体のサブナノ分解能 AFM 計測とその高速形状像シミュレーション解析

Subnanometer-scale AFM imaging of protein structures and geometrical AFM simulation

金大[1]，浜松医大[2]，ACT-C/JST[3]　°高尾一史[1]，淺川雅[1]，片桐由智[1]，池上浩司[2]，瀬藤光利[2]，福間剛士[1,3]

Kanazawa Univ.[1], Hamamatsu Univ. School of Medicine[2], ACT-C/JST[3]

°Kazufumi Takao[1], Hitoshi Asakawa[1], Yukitoshi Katagiri[1], Koji Ikegami[2], Mitsutoshi Setou[2] and Takeshi Fukuma[1,3]

E-mail: k.takao@stu.kanazawa-u.ac.jp

タンパク質など生体分子の構造・機能を解析することは、生命現象の解明に加えて、創薬分野やバイオマテリアル研究において重要である。従来、分子スケールの実空間で生体分子表面を直接観察することは難しかったが、近年，周波数変調原子間力顕微鏡（FM-AFM）によりサブナノメートル分解能での液中計測が可能となってきた。一方、 AFM 計測で得られる探針形状の影響を含んだ表面形状像だけでは、生体分子の配向性や集合体構造の詳細な議論が難しい場合も多い。そこで本研究では、探針先端と生体分子を剛体かつ幾何学モデルとして考える高速形状像シミュレーションを用いて、サブナノ分解能 FM-AFM 像の解釈が進むか検討した。具体的には、細胞骨格タンパク質であるチューブリンの液中 FM-AFM 像とシミュレーション像を比較し、分子配向の同定や分子集合体構造の議論が可能になるか検証した（Fig. 1a）。

探針形状モデルは球+円錐形状(円錐角: 20°)として、先端半径 R を 0.1-0.5 nm の範囲で変化させて最適な探針形状の条件を検討したところ、サブナノ分解能 FM-AFM 像を再現するには R = 0.2 nm 前後の値が妥当であるという結果が得られた(Fig. 1)。Fig. 2a はチューブリン集合体の液中 FM-AFM 像であるが、従来この情報だけでは分子配向・集合体構造の解釈が難しかった。そこで、点線で示したハの字形の表面構造に着目してシミュレーション像(Fig. 2b)と比較すると、チューブリン分子が予想される配向から 30°回転して基板に固定されていることが分かった。これを基に、極めて構造の良く似た α-β チューブリンの識別が可能となり、抗がん剤であるタキソールの結合サイトを特定できた。以上の結果より、液中 FM-AFM 計測と高速形状像シミュレーションを組み合わせることで、分子配向の同定に加えて、薬剤結合サイトなど機能性部位の特定など分子スケールの表面構造解析が実現可能であることを示した。

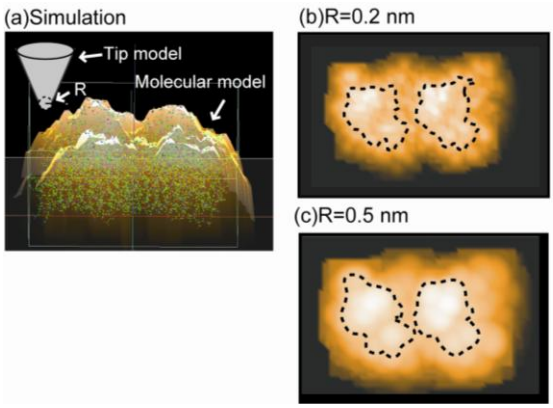

Fig. 1. Geometrical AFM simulation of a tubulin dimer

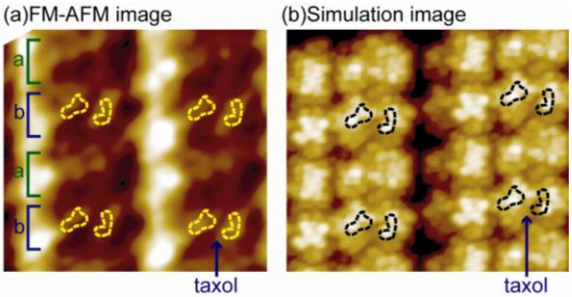

Fig. 2. Identification of molecular scale structures of tubulins

© 2014 年　応用物理学会