

液中 FM-AFM による免疫グロブリン M (IgM) の抗原結合評価

High-resolution imaging of the IgM-antigen complexes

by FM-AFM in aqueous solution

京大工¹, 京大白眉セ²

○黄 雲飛¹, 木南 裕陽¹, 小林 圭^{1,2}, 山田 啓文¹

Dept. of Electronic Sci. & Eng., Kyoto Univ.¹, The Hakubi Center for Adv. Res., Kyoto Univ.²

○Y. Huang¹, H. Kominami¹, K. Kobayashi^{1,2}, H. Yamada¹

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

【研究背景】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。われわれは近年、DNA 2 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]に成功した。一方、初期免疫過程において重要な働きを担う IgM 抗体分子は多量体構造をとる分子としてよく知られており(図 1)、以前より精力的に研究が行われている。前回、IgM 5 量体構造の液中高分解能観察について報告した[3]、IgM 分子と抗原分子の結合メカニズムに関しては依然不明な点が多く存在する。今回、抗グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドログナーゼ (GAPDH) IgM 抗体分子と抗原性 GAPDH 分子の結合状態を FM-AFM により液中観察したので、その結果について議論する。

【実験方法と結果】抗 GAPDH の IgM 抗体分子をリン酸緩衝液によって希釈し、へき開したマイカ基板上へ、観察溶液 (50 mM MgCl₂) とともにそれぞれ 5 μ l を滴下し、10 分間静置した。その後、観察溶液を用いて 1 回リンスを行い、GAPDH 分子 (抗原性分子) の溶液を 5 μ l 滴下した。再び 10 分間静置した後に、5 回リンスを施し、観察溶液内で FM-AFM 観察を開始した。図 2 は、広域走査 (約 400 nm $\times$ 400 nm) における抗体抗原複合体の液中 FM-AFM 像であり、複数の吸着物が観察された。さらに詳細に観察すると、吸着物は IgM 5 量体と抗原と思われる複数の丸い吸着物の複合体である。また、図 3 (a) は IgM の抗原結合部位 (Fab) への結合に相当すると考えられる。図 3 (a) 中の折れ線 A-B に沿う断面プロファイル (図 3 (b)) には、それぞれ Fc 領域、Fab 領域及び GAPDH の高さで整合していることが分かった。

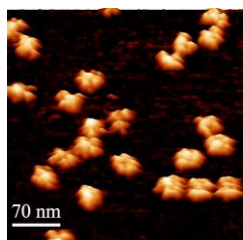


図 1: IgM 抗体分子の液中 FM-AFM 像.

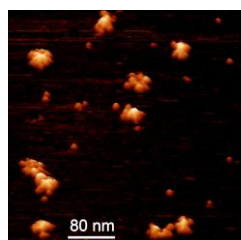


図 2: IgM 抗体抗原複合体の液中 FM-AFM 像.

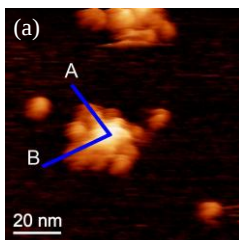
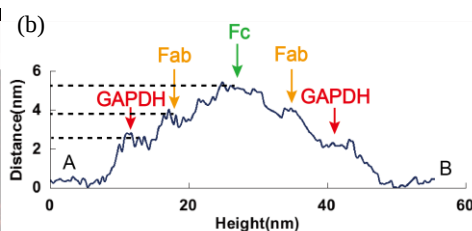


図 3: (a) 複数の抗原性分子が吸着した IgM 5 量体の観察結果. (b) 図 3 (a) 内の折れ線 A-B における断面プロファイル.



[1]S.Ido et al. *ACS Nano* **7**, 1817 (2013).

[2]S.Ido et al. *Nature Mater.* **13**, 264 (2014).

[3]黄他, 2014 年秋季 第 75 回応用物理学会学術講演会, 19a-A8-7.