

振幅変調型原子間力顕微鏡を用いた 分子認識イベントの高速ナノスケールマッピング

In-situ molecular recognition event site imaging at a nanoscale

by amplitude-modulation atomic force microscopy

東工大物質理工¹, 理研² ○(D)丹生 隆¹, (M2)大橋 りな¹, 林 智広^{1,2*}

Tokyo Tech.¹, RIKEN², ○Takashi Nyu¹, Rina Ohashi², Tomohiro Hayashi^{1,2}

E-mail: nyu.t.aa@m.titech.ac.jp, hayashi.t.al@m.titech.ac.jp

細胞膜に存在する受容体タンパク質、糖鎖などの分子認識を担う生体分子のナノスケールの 2 次元分布の分析は、細胞の外部刺激応答・細胞間情報伝達のメカニズム解明のために必要不可欠である。一般的にはこれらの分析は、蛍光顕微鏡を用い、レセプター分子と特異的に結合する標識を用いて染色した試料を観察する方法が用いられる。しかし、通常の蛍光顕微鏡では空間分解能は数 100 nm に限られており、1 分子レベルでの空間分解能で 2 次元分布を解析することは不可能である。また標識染色を用いた蛍光顕微鏡観察では、受容体タンパク質の細胞膜上における分布の外部刺激による時間発展など、ダイナミックな経時的変化を同一の試料で、連続的に解析することは困難である。本研究では分子スケールの空間分解能で、高速に物体表面の形状像取得が可能である振幅変調型原子間力顕微鏡(AM-AFM)を用いた分子認識イベントのイメージングを試みた。特に水中での安定した位相イメージングを可能とする自作の光熱励振機構を組み入れた AFM 装置、および AFM 探針先端をたんぱく質、糖鎖などと特異的に結合する標識で修飾した探針を用いることによる、カンチレバーの位相変化および振幅変化からの、分子認識イベントの検出に関して議論する。

本研究では代表的な特異的分子認識の系である Streptavidin(SA)-biotin(解離定数: $K_d=10^{-15} \text{ s}^{-1}$)の系を用いた。平坦な金表面に作製した COOH 末端のチオール分子の自己組織化単分子膜上に SA を固定し、探針には biotin 分子を約 10 nm の長さを持つポリエチレングリコールのリンカー分子を介して共有結合で固定した。通常のスキャンでは位相像には分子認識に加え、形状、表面の粘弾性、その他の寄与が多いことが明らかとなった。そこで、同一箇所を 1 回目のスキャンでは形状像取得、2 回目のスキャンでは探針を 10 nm 表面から遠ざけて位相像を取得した。分子認識が起きない基板と探針による測定では、2 回目のスキャンで位相シフトは起きなかったことから、位相シフトから分子認識イベントをイメージングできることが明らかとなった。また、牛血清アルブミン(BSA)-BSA 抗体($K_d=10^{-3} \text{ s}^{-1}$)の系を用いて同様の実験を行ったところ、SA-biotin と同様の結果が得られ、様々な分子認識の系での応用が可能である事が示された。

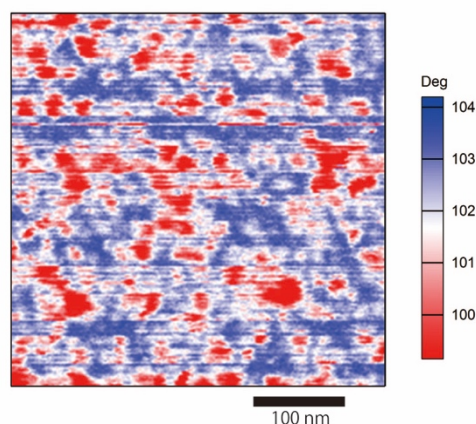


Fig. Molecular recognition imaging of the system of SA (substrate) and biotin (probe) by AM-AFM