

FM-AFM による streptavidin–biotin 間相互作用検出

Investigation of specific interactions between streptavidin and biotin using FM-AFM

京大工 ○杉本 千奈, 木南 裕陽, 小林 圭, 山田 啓文

Dept. of Electronic Sci. & Eng., Kyoto Univ. °K. Sugimoto, H. Kominami, K. Kobayashi, H. Yamada

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

医療・工業分野において、分子標的治療薬やバイオセンサといった生体系における精密な分子認識機構を利用した新規治療法・新規デバイスの開発が盛んに行われている。しかし、生体分子間の分子認識機構には未だ不明な点も多いため、原子間力顕微鏡 (AFM) を用いた分子認識機構に関する研究が精力的に進められている[1,2]。われわれは、液中で動作する周波数変調AFM (FM-AFM) の高い空間分解能と保存力・散逸力計測の定量性に着目し、FM-AFMによる生体分子間相互作用マッピング法の開発に取り組んでいる。前回の講演ではFM-AFMを用いたstreptavidin(SA)–biotin間特異結合力検出について報告した[3]。一方、FM-AFMにおける特異結合力の検出頻度は従来のコンタクトモードに比べてやや低くなる傾向があることが分かってきた。そこで本研究では、カンチレバーの振動振幅や探針–試料間距離の掃引速度等のパラメータを変化させ、FM-AFMによる生体分子間相互作用検出の最適化を試みたので、その結果について報告する。

へき開したマイカ基板上に1 mg/mLのSA溶液を滴下し、20分静置した後にリンスを行い基板全面にSA 2次元結晶を作製した。Si製カンチレバー (BL-AC40TS, ばね定数: 0.09 N/m) の探針表面をAPTES (aminopopyltriethoxysilane) でコートし、biotin-PEG(polyethylene glycol)-NHS(N-hydroxysuccinimide ester) 溶液に浸漬することでbiotin修飾を施した。探針を8 nmp-pで振動させ、探針–試料間距離の掃引速度を880 nm/s 程度としたときの平均たわみから算出した相互作用力と共振周波数の変化をFig. 1(a)および Fig. 1(b)に示す。それぞれのグラフにおいて、特異結合による引力および引力勾配に相当する周波数シフトの増加が計測された。一方、Fig. 2に振動振幅と特異結合力の検出確率の関係を示す。同じ色は同一探針による測定結果を示している。図2より、探針の振動振幅を小さく設定した方が検出頻度が高いことが分かった。振動振幅はPEG鎖長 (約9 nm) に比べ小さく設定する必要があることを示唆している。

[1] 丹生ら, 第77回応用物理学会秋季学術講演会, 13a-B10-4 (2016). [2] P. Hinterdorfer and P. Dufrêne, *Nat. Methods* **3**, 347 (2006). [3] 杉本ら, 第64回応用物理学会春季学術講演会, 13a-B10-2 (2017).

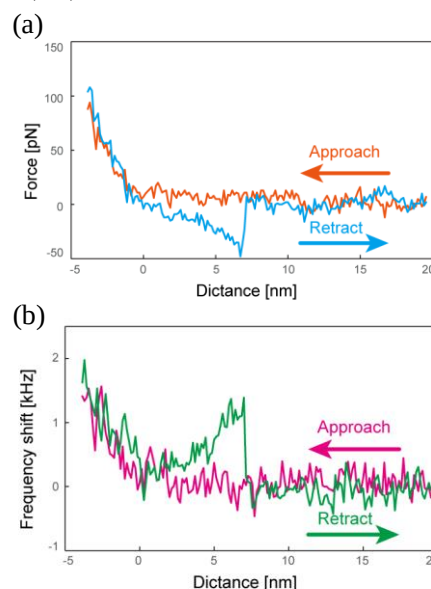


Fig. 1: Mean force (a) and (b) frequency shift curves measured on SA with biotinylated tip by FM-AFM.

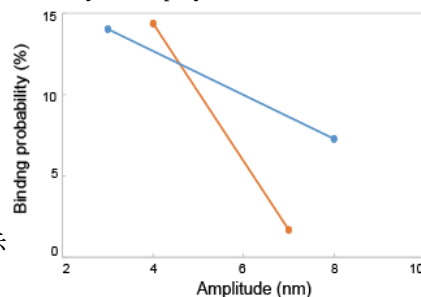


Fig. 2: Detection probability of specific binding event by FM-AFM as a function of oscillation amplitude.