

複数 AFM モードによる streptavidin-biotin 間特異的相互作用力測定

Investigation of streptavidin-biotin interactions by using multi AFM modes

京大工 °杉本 千奈, 宮本 眞之, 木南 裕陽, 小林 圭, 山田 啓文

Dept. of Electronic Sci. & Eng., Kyoto Univ.

°K. Sugimoto, M. Miyamoto, H. Kominami, K. Kobayashi, H. Yamada

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

生体システムにおける分子認識機構は非常に正確であり、分子標的薬やバイオセンサといった医療・工業における応用が期待されている。streptavidin (SA) – biotin 系は分子認識機構の典型例として広く研究されており、われわれはコンタクトモード AFM による SA 2 次元結晶-biotin 間の特異的相互作用力の検出に成功している[1]。一方、ダイナミックモード AFM は一般的に高い空間分解能での観察が可能であり、特に周波数変調 AFM を用いた場合、高感度かつ定量的な力測定が可能であるが、ダイナミックモード AFM による特異的相互作用力の計測例は少ない。そこで本研究では、複数の AFM モードを用いて SA-biotin 間の特異的相互作用力測定を行い、各モードにおいて得られた結果を比較する。

試料および修飾探針の作製方法を以下に示す。DOPC、DOPS および biotin-cap-DOPE を体積比 7:2:1 の割合で混合しマイカ基板上に滴下することで脂質二重膜を作製し、さらに 1 mg/mL の SA 溶液を滴下することで脂質二重膜上に SA 2 次元結晶を作製した。また、カンチレバー (BL-AC40TS, ばね定数: 0.09 N/m) を 0.1% 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES) 溶液に浸漬し表面を NH₂ 末端としたのちに、中性条件下において biotin-polyethylene glycol (PEG)-N-hydroxysuccinimide (NHS) 溶液に 1 日以上浸漬することで biotin 修飾を行った。本実験の探針-試料系の模式図を図 1 に示す。この系において振幅変調モードによるフォースカーブ測定を行い、同時に取得したたわみから算出したフォースカーブおよび振幅カーブを図 2(a, b)に示す。図 2(a)において探針を SA 2 次元結

晶から後退させる際、SA 結晶表面から 10 nm 程度の位置にたわみの急激な変化が見られた。また、図 2(b)において結晶表面から 5-10 nm 程度の領域で探針後退時の振幅が探針接近時と比較して小さくなっており、その後急激に探針接近時のカーブに一致する。この結果から、探針後退時に SA-biotin 間の特異結合による引力が生じたため振幅が減少し、結合が切れた瞬間に相互作用が働いていない状態の振幅に戻ったことがわかる。

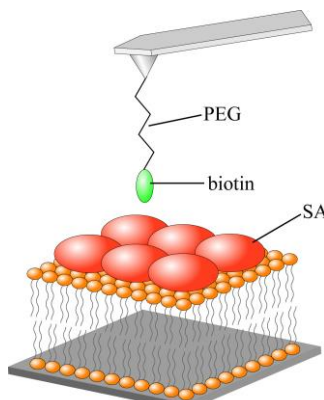


図 1: 本実験の模式図.

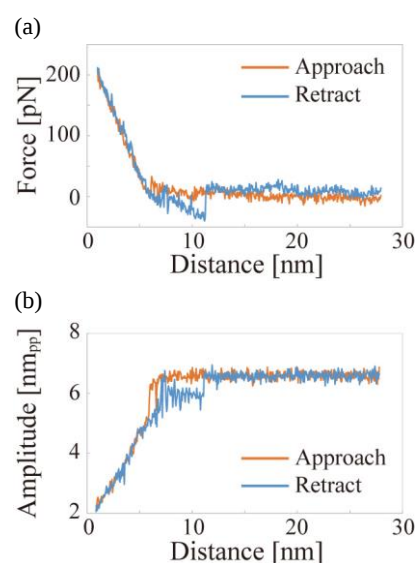


図 2: 振幅変調モードによるフォースカーブ測定結果. (a) たわみから算出したフォースカーブ. (b) 振幅カーブ.

[1] 宮本他, 2016 年第 63 回応用物理学会春季学術講演会, 13a-B10-2.