

振幅変調型原子間力顕微鏡を用いた分子認識サイトの 高速ナノスケールイメージング

Fast imaging of molecular recognition sites at a nanoscale by atomic force microscopy



東工大物質理工¹, 理研² ○(DC)丹生 隆¹, 前川 達洋¹, SUTHIWANICH Kasinan¹,
林 智広^{1,2}

Tokyo Tech¹, RIKEN², ○(DC)Takashi Nyu¹, Tatsuhiro Maekawa¹, Kasinan Suthiwanich¹,
Tomohiro Hayashi²

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

細胞膜上に存在する細胞間情報伝達を担うたんぱく質や糖鎖の分布を、ナノスケールの空間分解能で測定する技術は、細胞同士の認識・結合や、薬剤に対する細胞の応答などのメカニズムを解明する上で必要不可欠である。従来の蛍光標識を用いた蛍光顕微鏡観察では空間分解能(数 100 nm 程度)、同一試料の経時変化観察の困難さ等の問題があり、分子認識イベント・サイトをナノスケールでリアルタイムに観測可能な新しい技術が求められている。ここでは振幅変調型原子間力顕微鏡(AM-AFM)の位相差イメージングを用い、上記の目標を達成した成果について報告する。

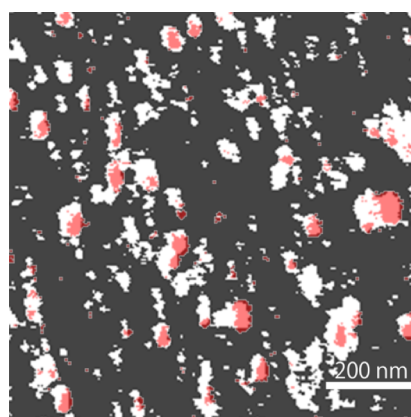


Fig. Molecular recognition image (red) superimposed on the topographic image (white)

ここでは最も強い非共有結合をもつ分子認識系に分類される Streptavidin(SA)-biotin(解離定数: $K_d=10^{-15}$ M)を用いた。平坦な(自乗平均面粗さ 1 nm 以下)金表面に SA を固定し、探針には biotin 分子をリンカー分子(約 10 nm)を介して固定した。カンチレバーの励振には安定な水中のイメージングを可能とする光熱励振法を採用した。分子認識イベントの観察において、同一箇所に対して 2 回の異なるライン走査測定を行った。1 回目のライン走査では通常形状像を取得し、2 回目のライン走査では探針を一定距離だけ表面から遠ざけて位相像を取得した。1 回目の走査とは異なり、2 回目の走査では位相には表面の局所的な粘弾性応答は反映されず、分子認識イベントのみが反映されることが明らかとなった。結果の一例を図に示す。ここでは表面上の SA と考えられる凸部分を白色、そして、分子認識が観察されたサイトを赤色で示した。この結果から SA が存在していても、必ずしも biotin の結合サイトになりうるわけでは無いことが明らかとなった。その原因は SA の配向、変性(構造変化)等に由来すると推測している。また、本手法は他の分子認識系(例えば、BSA-BSA 抗体など)にも応用可能であることが証明され、表面の分子結合サイトを高速にナノスケールの分解能でイメージングする技術として応用が可能である事が示された。本発表では、測定条件の最適化、従来のコンタクトモードを用いたフォースマッピング法との比較(測定時間、分子認識捕捉の正確性)、今後の展望などについても報告する。