

## フォースカーブ解析によるタンパク質分子のゆらぎ評価の検討

### Force-curve analysis for estimation of molecular fluctuations

京大工, <sup>○</sup>山本 悠樹, 木南 裕陽, 小林 圭, 山田 啓文

Dept. of Electronic Sci. & Eng., Kyoto Univ., <sup>○</sup>Y. Yamamoto, H. Kominami, K. Kobayashi, H. Yamada

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

フォースカーブ測定は原子間力顕微鏡 (AFM) を用いて対象試料の物性値を計測するための代表的な測定法であり、これまでにわれわれは溶液環境下で周波数変調 (FM-)AFM を用いて生体分子試料の特異結合力[1]や表面電荷密度[2]を計測してきた。その一方で、対象分子を基板に対して十分に強く固定化できない場合、分子はその運動揺らぎのために、相互作用力計測の定量性が低下するという問題がある。本研究では、分子が溶液環境から受ける揺動を制御するための基板として DNA オリガミ[3]を作製し、これに固定化した streptavidin (SA) 分子上で取得した周波数シフトカーブを統計的に解析することにより、この揺動を評価する方法を検討したため報告する。

作製した DNA オリガミを Fig. 1 に示す。DNA オリガミは層状構造を有しており、単層、2層、3層の領域のそれぞれに SA 分子を固定するための窓が設けられている ( Fig. 1 (a) )。DNA オリガミが mica 基板に吸着した状態で SA 分子が窓内の biotin 修飾 DNA に固定化されたとき、SA 分子の溶媒側への露出部が異なるように設計されている ( Fig. 1 (b) )。SA 分子をこの DNA オリガミに固定させ液中 FM-AFM で観察すると、SA 分子は輝点となって現れた ( Fig. 2 )。2 および 3 層領域に固定化された SA (SA3, SA2) は、Fig. 1(b) のようにならず、最上層の biotin とだけ結合し、むしろ露出部が非常に大きいことが分かった。これらの SA 分子の上で、3 次元フォースマッピング法により周波数シフトカーブを取得した。各 SA 分子ごとに平均的な 1 本の周波数シフトカーブを求め、このカーブと同一分子上の個々のカーブの二乗平均誤差の分散を求め、また揺動の影響が大きいと考えられる分子端部のカーブを解析に含めて分散を求めると、各 SA 分子上における分散は 1 層部 (SA1) が 0.53、2 層部 (SA2) は 1.44、3 層部 (SA3) は 2.81 だけ増加し、DNA オリガミの階層が高い場所に固定化された SA 分子ほど周波数シフトの分散が大きくなり、揺動が大きい傾向が示された。これは、DNA オリガミによる SA 分子の固定化が mica 基板への吸着より弱いことを示していると考えられる。

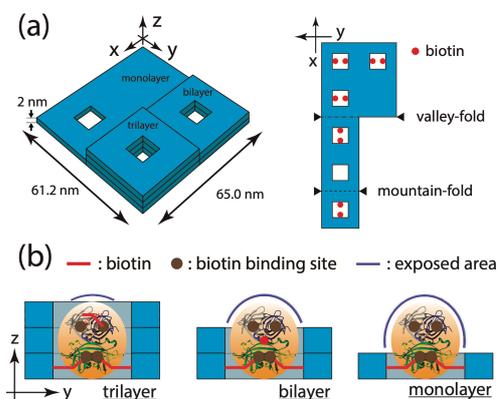


Fig. 1: (a) Schematic DNA origami. (b) Cross-sectional drawings of each region..

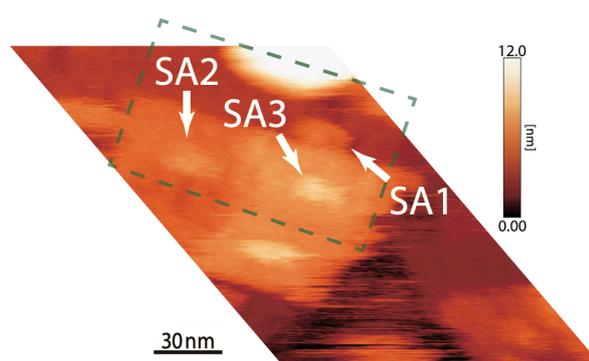


Fig. 2: A FM-AFM image of SA molecules bound to DNA origami. A DNA origami is enclosed by the dash rectangle as a guide for the eye.

[1] 杉本ら, 第 79 回応用物理学会秋季学術講演会 19p-222-11 (2018).

[2] K. Umeda et al., *Nanotechnol.* **26**, 285103 (2015). [3] P. W. K. Rothmund, *Nature* **440**, 297 (2006).