streptavidin 2 次元結晶への biotin 修飾分子結合と結晶無秩序化との相関に関する研究

Investigation of relationship between specific bindings of biotinylated proteins to streptavidin and disruption of streptavidin 2D crystals.

京大院工　°前田 祥吾，木南 裕陽，金澤 昌平，小林 圭，山田 啓文

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

°S. Maeda, H. Kominami, S. Kanazawa, K. Kobayashi, H. Yamada

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

streptavidin (SA) 分子は biotin 分子と特異的に結合し、biotin 修飾脂質分子を含んだ脂質二重膜上で 2 次元結晶を形成する。この結晶中の SA は 1 分子あたり 2 つの biotin 結合サイトが結晶表面に露出しており、biotin 修飾タンパク質の原子間力顕微鏡 (AFM) 観察プラットフォームとして用いることができる[1]。一方、biotin 分子を結合させると結晶が無秩序化することも報告されている[2]。われわれは、脂質二重膜上の SA 結晶の無秩序化メカニズムの解明に向けて、biotin 分子および biotin 修飾分子を SA 結晶へ結合させ、AFM を用いて SA 結晶の構造観察を行っている。biotin は低分子であり、個々の結合サイトに biotin が結合している様子を AFM によって確認することは困難であるため、両端に biotin 修飾を施した二重鎖 DNA 分子 (biotin-DNA) を用いて実験を行ったところ、図 1 (a) の表面形状像内の矢印が示すように biotin-DNA の結合は確認できたが、SA 結晶の無秩序化は生じなかった[3]。また、結合した biotin-DNA は両端以外の部分が探針の走査方向に引っ張られるように動くことがわかり、両端が間の特異結合によって固定されていることが示された。これより、biotin 分子や biotin 修飾分子の結合密度には結晶の無秩序化を引き起こすしきい値があり、biotin-DNA の結合密度がそのしきい値より低かった可能性が示唆された。一方、鎖長が長い biotin-DNA では DNA 鎖部分が長く、上記の観察上の問題に加え、立体障害のため biotin 結合サイトの被覆率を十分に上げられないという問題があることが分かった。そこで今回はより鎖長の短い biotin-DNA 等、よりサイズの小さい biotin 修飾分子を用い、図 1 (b) の模式図に示すように SA 結晶に対する biotin-DNA の結合密度と結晶無秩序化との相関を調べた。本講演ではその詳細について報告する。

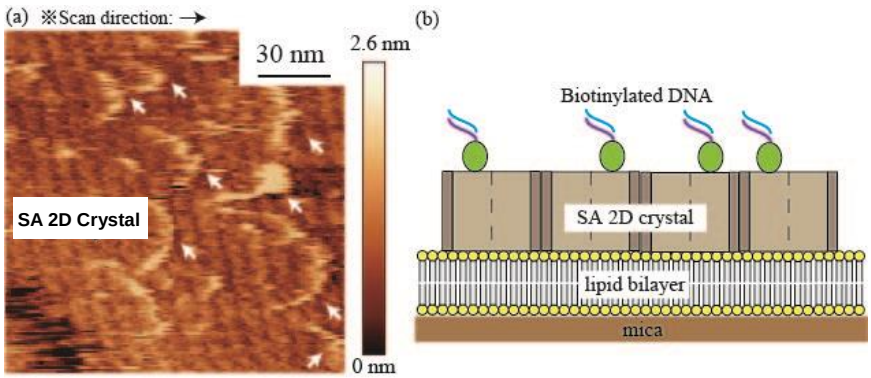

Fig. 1: (a) Topographic image of long biotin-DNA molecules bound to SA 2D crystal. (b) Schematic drawing of binding of short biotin-DNA molecules to SA 2D crystal.

[1] D. Yamamoto et al., *Nanotechnol.* **19**, 384009 (2008). [2] D. Yamamoto et al., *Biophys. J.* **97**, 2358 (2009).
[3] 前田 他、2018 年第 79 回応用物理学会秋季学術講演会、18a-143-4.