

## 修飾探針 FM-AFM を用いた streptavidin-biotin 間特異的結合測定

### Investigation of specific interaction by FM-AFM using functionalized probes

京大工<sup>○</sup>杉本 千奈, 木南 裕陽, 小林 圭, 山田 啓文

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

E-mail: [sugimoto@piezo.kuee.kyoto-u.ac.jp](mailto:sugimoto@piezo.kuee.kyoto-u.ac.jp)

原子間力顕微鏡 (AFM) を用いて生体分子の機能を可視化するための試みとして、表面を分子修飾した AFM 探針と特異的に反応する受容体との間にはたらく相互作用力を計測する研究が行われている。これまでに、定量的な測定が可能なコンタクトモード AFM によるフォースマッピング法や[1]、高い分解能を持つ認識イメージングなどの手法が開発されている[2]。われわれは、新たな測定手法として高い空間分解能を持ち、保存力・散逸力計測における定量性を有する周波数変調原子間力顕微鏡 (FM-AFM) に注目した。本講演では、特異的相互作用のモデルとして多く利用されている streptavidin (SA) -biotin 系の間にはたらく力を FM-AFM を用いて測定した結果について報告する。

へき開した mica 基板に DOPC、DOPS および biotin-cap-DOPE を混合した脂質溶液を滴下、静置した後、SA 溶液を滴下することで SA 2次元結晶を作製した (Fig.1)。探針は Si 製カンチレバー (BL-AC40TS, ばね定数: 0.09 N/m) を APTES (aminopopyltriethoxysilane) 溶液に浸漬した後に biotin-PEG<sub>4</sub>-NHS (N-hydroxysuccinimide ester) 溶液に浸漬することで表面に biotin 修飾を施した。探針を共振周波数近傍で振動させた状態で (振幅: 4 nm<sub>p-p</sub>)、試料への接近と後退を繰り返し、カンチレバーの静的たわみと共振周波数シフトを同時測定することで、2種類のカーブを取得した (Fig.2 (a): 静的たわみから求めた力, (b): 共振周波数シフト)。いずれの測定においても探針後退時のカーブは最も強く押し込んだ点から試料表面位置 (距離 0 の点) 付近までは接近時のカーブと重なっていたが、試料表面位置以降、後退するに連れて接近時のカーブとの差が大きくなり、6.2 nm の位置で急激に変化して接近時のカーブとの差はなくなった。この結果は、接近時に SA-biotin 間に特異結合が生じ、後退に伴って結合が切れ、その瞬間に元の状態に戻ったことを示している。

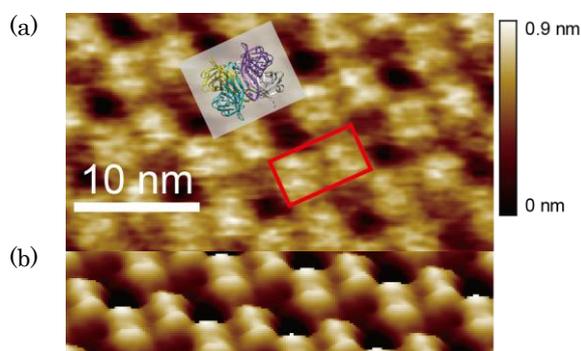


Fig.1: (a) Topographic image of SA 2D crystals on lipid bilayer. (b) Unit-cell-averaged image of (a).

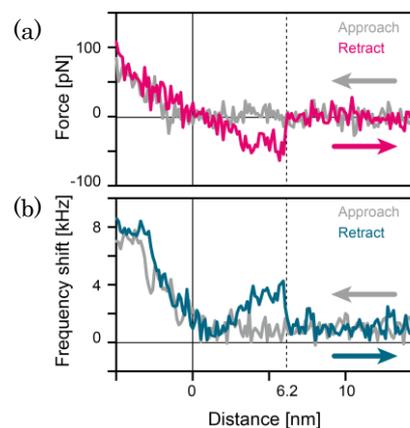


Fig. 2: (a) Mean force curve. (b) Resonance frequency shift curve.

[1] D. Alsteens et al *Nature Method*, **12**, 845 (2015). [2] A. Ebner et al, *Chem. Phys. Chem.* **6**, 897 (2005).

[3] 杉本ら, 第 65 回応用物理学会春季学術講演会, 19p-F210-12 (2018).