

## streptavidin 2次元結晶への biotin 分子特異結合と 結晶無秩序化との相関に関する研究

Investigation of relationship between the specific binding of biotin  
to streptavidin and the disordering of streptavidin 2D-crystal

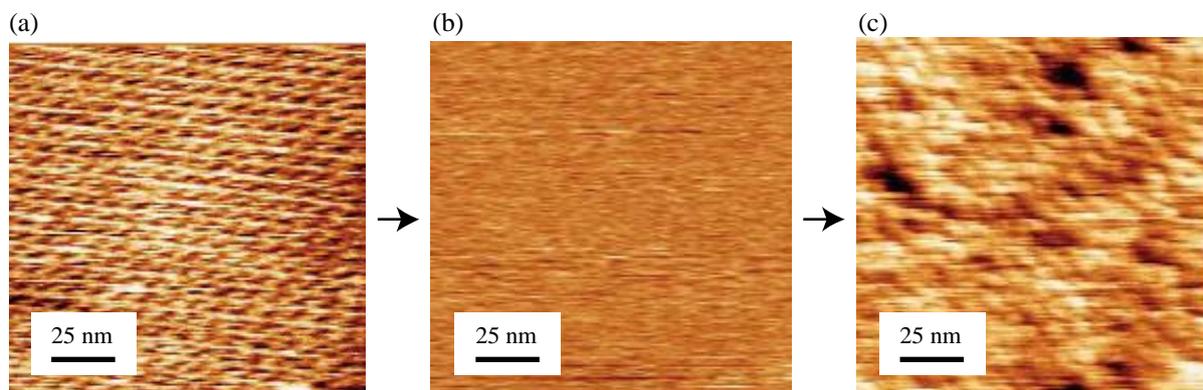
京大工 ○前田 祥吾, 木南 裕陽, 小林 圭, 山田 啓文

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

○S. Maeda, H. Kominami, K. Kobayashi, H. Yamada

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

streptavidin (SA) タンパク質分子は4量体から構成され、各単量体がもつ $\beta$ バレル構造が biotin 結合サイトとしてはたらき、biotin 分子との間で特異的結合を生じることが広く知られている。mica 基板上の SA 分子は、4つの biotin 結合サイトが側面に向くような姿勢で基板表面に吸着して2次元結晶を形成する。一方、biotin 修飾脂質分子を含む脂質膜上においても、SA は2次元結晶を形成するが、各 SA 分子 (4量体) のうち2つの biotin 結合サイトを表面に露出するような姿勢で結晶を形成し、原子間力顕微鏡 (AFM)を用いた biotin 修飾タンパク質を観察する上でのプラットフォームとしての応用が期待されている[1]。脂質二重膜上 SA 結晶に biotin 分子を結合させると結晶が無秩序化することが報告されているが[2] [3]、この無秩序化は、SA-biotin 結合による構造変化が、隣接する SA 間の相互作用を変化させることで、SA 結晶全体の無秩序化が引き起こされると考えられている。SA-biotin の反応速度は AFM の走査速度より早いことから、この無秩序化過程を AFM 観察で直接捉えることは困難である。われわれは、Glutaraldehyde (GA)を用いて SA 分子を固定化することで無秩序化過程を調べることにした。すなわち、GA により SA 分子を固定化してから biotin 添加した試料と、SA 分子に先ず biotin 添加してから GA により固定化した試料を比較し、biotin 結合と結晶無秩序化との相関を調べた。図(a)のような結晶構造が最密に保たれた状態の SA 結晶に biotin を反応させると、無秩序化が起こり図(b)のように結晶構造が観察されなくなった。この状態で GA 固定を行うと図(c)のように長距離相関が崩れた形で SA 結晶が再度可視化された。本講演ではこの無秩序化過程の詳細について報告する。



**Fig. 1:** (a) Topographic image of streptavidin 2D crystal on lipid bilayer. (b) Topographic image after adding 10  $\mu$ M biotin 20  $\mu$ L. (c) Topographic image after adding 0.1 M GA 20  $\mu$ L (rinsed 4 times after waiting 20 minutes).

[1] D. Yamamoto et al., *Biophys. J.* **97**, 2358 (2009). [2] D. Yamamoto et al., *Nanotechnol.* **19**, 384009 (2008). [3] 宮本 他、2015 年第 62 回応用物理学会春季学術講演会, 11p-D5-4.