フォースマッピングにおける特異結合の破断検出

Rupture detection of specific binding during force mapping

京大工，°合原　岳　木南　裕陽，　小林　圭，　山田　啓文

Dept. of Electronic Sci. & Eng., Kyoto Univ, °G. Gouhara, H. Kominami, K. Kobayashi, H. Yamada

E-mail: gouhara.gaku.88r@st.kyoto-u.ac.jp

生体分子の選択的な分子認識能力は特異結合によって実現されており、分子スケールでのメカニズムの解明は生体機能を明らかにする上で重要な研究課題の 1 つである。原子間力顕微鏡(AFM)では、生化学修飾を施した探針でフォースカーブ測定を行うことで、生体分子間の特異結合を直接評価することが可能となる。われわれは、streptavidin(SA)を脂質 2 重膜上に固定し、biotin 修飾された探針を用いて結合サイトの可視化を行ってきた[1]。前回の発表では SA の固定方法の違いによる特異結合の破断検出確率の変化を評価し、試料の作製条件に関する考察を行ったが[2]、一方で探針が破断検出確率に与える影響に関しては不明な点が多い。そこで本研究では、探針の試料への接触・引き揚げ法(Z-走査法)などの実験条件が破断検出確率に与える影響を評価したので、その結果について報告する。

観察試料として、mica 基板上に biotin 修飾された脂質 2 重膜を作製し、その上に SA 粒子を固定したものを用いた。カンチレバーは Olympus 社製 BL-AC40TS-C2 を用い、探針の biotin 修飾はクロロホルム浸漬と UV 照射により洗浄した後、2%APTES に 1 時間、biotin-PEG$_{24}$-NHS (N-hydroxysuccinimide ester) 1 mg/mL に 2 時間浸漬することで行った。またフォースカーブ測定は時分割フォースマッピング法では、全走査点 (256×256 pixels) のうち指定したフォースカーブ点 (127×128 pixels) にてカンチレバーの水平走査と励振を停止し、図 1 に示しているような上下方向の掃引を 4 回行った。脂質 2 重膜上に吸着した SA 分子に対してフォースマッピングを行った結果を図 2 に示す。各色の円で囲まれた内の輝点において、図 3 のような特異結合の破断を示すフォースカーブが得られた(破断力閾値は 40 pN とした)。本実験における特異結合の破断検出確率は 2.3%となり、上下掃引を 1 回のみ行った場合の約 4 倍の値となった。

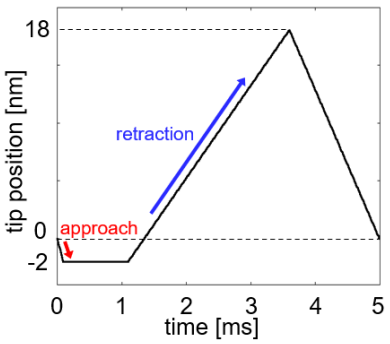

Fig. 1. Tip-Z-motion for obtaining a force curve.

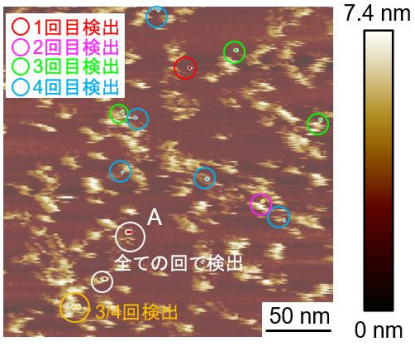

Fig. 2. Rupture map of specific binding between SA and biotin.

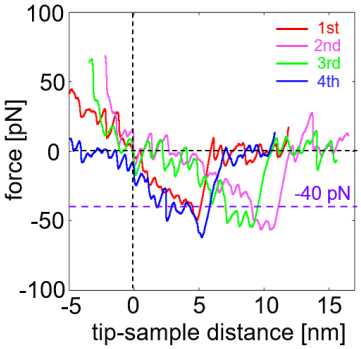

Fig. 3. Force-distance curve obtained at point A in fig. 2.

[1] 堀内ら，第 68 回応用物理学会春季学術講演会 16p-Z15-12.
[2] 合原ら，第 82 回応用物理学会秋季学術講演会 10a-N207-4.

© 2022年 応用物理学会