

液中高分解能 AFM による生体分子イメージングおよび相互作用力可視化

Structural and functional visualization of biomolecules by high-resolution AFM in liquids

京大院工 ○山田 啓文

Department of Electronic Science & Engineering, Kyoto University

○Hirofumi Yamada

E-mail: h-yamada@kuee.kyoto-u.ac.jp

生体分子系はナノスケールの高度なシステムとして、細胞レベルの信号認識・伝達、エネルギー変換など、さまざまな生体機能における重要な役割を担っている。原子間力顕微鏡 (AFM) はこれら生体分子の観察に広く用いられているが、とりわけ、周波数変調AFM (FM-AFM) は非破壊・高分解能観察法として、膜タンパク質内のサブユニット構造や DNA二重らせん構造など多くの生体分子試料の直接観察に応用されるようになった [1,2]。一方、生体分子間の特異結合における生化学的メカニズムの解明に向けて、リガンド修飾されたAFM探針を用いて、これに相補的な受容体系にはたらく力を定量的に調べるなどのフォース分光法が確立された。当初は、相互作用力解析に重点が置かれたために、その空間分解能は犠牲にされたが、その後、高い空間分解能をもつ相互作用力解析法である3次元フォースマッピング法や FD-AFM (Force-distance curve-based AFM) などへと発展した。

本講演では、FM-AFMをベースとする3次元フォースマッピング法による水和構造や電荷分布の可視化 [1]について概説するとともに、生体分子間相互作用力の直接マッピング計測の現状と展望について述べたい。特異結合力のマッピング例として、脂質膜上の streptavidin (SA) 2次元結晶試料と biotin修飾した AFM探針によるフォースマッピングの結果例を Fig. 1に示す。FM-AFM動作時のAFM探針はカンチレバーの共振周波数で常に振動しているが、振動時の探針に対する非特異吸着は大幅に減少することが新たに見いだされた。これによって、測定における特異／非特異結合の有無の判断は容易になった。さらに、新たに開発された時分割フォースマッピング法を用いることにより、イメージング分解能としては不利となる biotin 修飾探針を用いても、SA4量体を構成する各単量体ドメインを識別しうる分解能をもつ AFM観察が実現し、同時にフォース分光測定も可能となった。

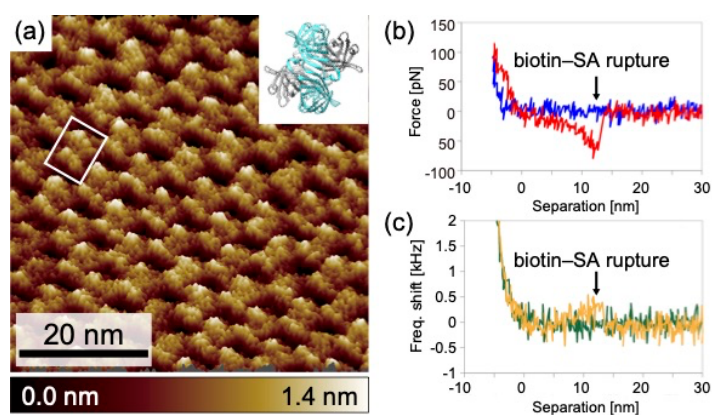


Fig 1: FM-image of two-dimensional SA crystal obtained with a biotin-modified tip having a PEG length of 9.0 nm. (a). Inset in (a) shows a molecular model of SA tetramer. Both approach (blue) and retract (red) force curves with the same AFM tip are shown in (b). Frequency shift curves corresponding to the curves in (b) are also shown in (c).

[1] H. Kominami et al., *Sci. Rep.*, **9**, 6851 (2019). [2] H. Kominami et al., *RSC Advances*, **8**, 29378 (2018).