

動的分子間力分光法を用いた Biotin-Streptavidin 結合ポテンシャルの分離測定

1) 筑波大数理物質 2) CREST JST ○谷中 淳^{1,2)}、武内 修^{1,2)}、重川 秀実^{1,2,*)}<http://dora.bk.tsukuba.ac.jp>

機能性分子の複雑な構造から生じる反応の多様性や限定性は、局所的な機能分子の性質や反応過程により決定されるため、機能解明には単分子レベルで互いの分子間に働く相互作用ポテンシャルを解析することが必要になる。動的分子間力分光法(DFS: Dynamic Force Spectroscopy)は、結合状態にある分子対に加重速度一定で外力を加え結合が切れる際の破断力を測定することで、特定の2分子間相互作用ポテンシャル曲線を導出する手法であるが、精密な測定には問題が残されていた。本研究では、原子間力顕微鏡(AFM)とデジタル信号処理装置により加重速度をフィードバック制御し、加重速度一定で精度の高いDFS測定を行うことのできるシステムを構築した。これにより、今まで正しい評価を与えることが困難であった加重速度の速い領域においてもより詳細な解析が可能となった。

これまでDFSにより分子間相互作用の計測が進められてきた系では、多くの場合複数のポテンシャル障壁を持つが[1]、これら相互作用の解析は推測の域をでない場合が多く、正しく理解されたとは言えない。そこで、新しく開発した装置を用い、Biotin-Streptavidinの系を対象として、Streptavidinと基板との化学結合の状態など、測定条件を操作するアイデアと組み合わせることで、複数のポテンシャルを分離して解析し、個別の相互作用を評価した。

Streptavidinを、Biotin-PEG分子を用いて基板に固定した場合、障壁位置は0.16nmおよび0.63nmと見積もられた。これは、PEG分子を介することによってStreptavidinの自由度が増し、Biotinが深く結合したため、Streptavidinのより深い位置にある障壁を観察できたためだと考えられる。次に、0.63nmの位置にある障壁の詳細を観察するため、緩衝溶液の塩分子の種類を変更し、相互作用を評価した(図1)。リン酸イオンおよび硫酸イオンでは障壁位置が(a)0.69nmおよび(c)0.77nmとなった。これはSER45とBiotin分子間を塩分子が架橋したために生じた障壁であると考えられる。また、炭酸イオンおよびホウ酸では(b)0.24nmであり、これはSER45とBiotinが直接水素結合を形成するために生じた障壁であると考えられる。

このように精密計測を可能にするシステムの構築により、複数のポテンシャルを持つ分子を対象として詳細な検討が可能になった。

[1] R. Merkel *et al.*, *Nature* **1999**, 397, 50.

*) Corresponding author

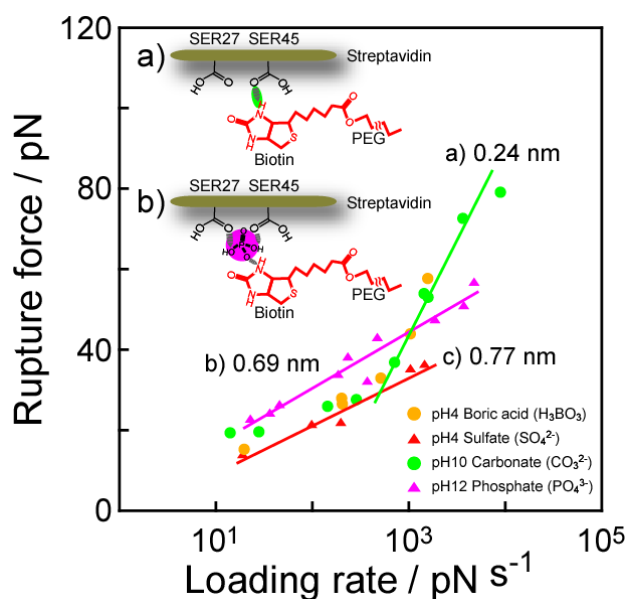


図1 加重速度に対する破断力の関係