

## 生体分子間相互作用への環境分子の影響に関する DFS 解析

### Measurement of Environmental Molecular Effects to Biological Molecular Interaction in Dynamic Force Spectroscopy

筑波大数物, 羽生達也, 平野祐一, 谷中淳, 武内修, 重川秀実

Inst. of Appl. Phys, Univ. of Tsukuba, Tatsuya Hanyu, Yuichi Hirano, Atsushi Taninaka, Osamu Takeuchi and Hidemi Shigekawa

<http://dora.bk.tsukuba.ac.jp/>

生体内で活動する酵素をはじめとする機能性分子は、生体内の微少な環境の変化に応じて、またはそれを利用することによってその働きを広く担っており、生物が活動するうえで無くてはならないものとなっている。こうした触媒あるいは酵素と呼ばれる機能性分子はタンパク質によって構成されており、特に強い特異的相互作用を示すものはレセプター-リガンド対としてよく知られている。

そうした機能性分子間における特異的な相互作用を単一分子対レベルで詳細に知るための手法として動的力分光法(DFS)がある。DFSでは、AFMを用いて分子対に直接力を印加することにより結合を破断させる。その際、分子対に印加する力の増加速度(Loading Rate)は一定に保ったうえで破断力を測定し、力の増加速度ごとに測定を重ねることによって各力の増加速度に対する破断力値を得る。

こうして得た力の増加速度と破断力との関係から、分子対の結合ポテンシャル地形に関するパラメーターと結合の自然寿命を得ることができる。[1]

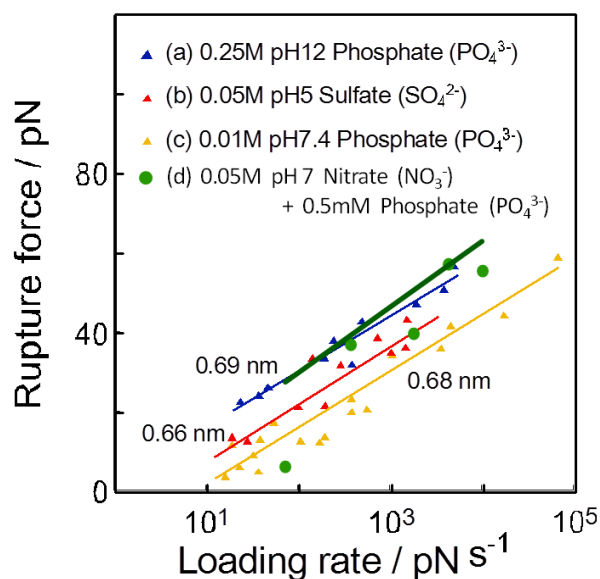
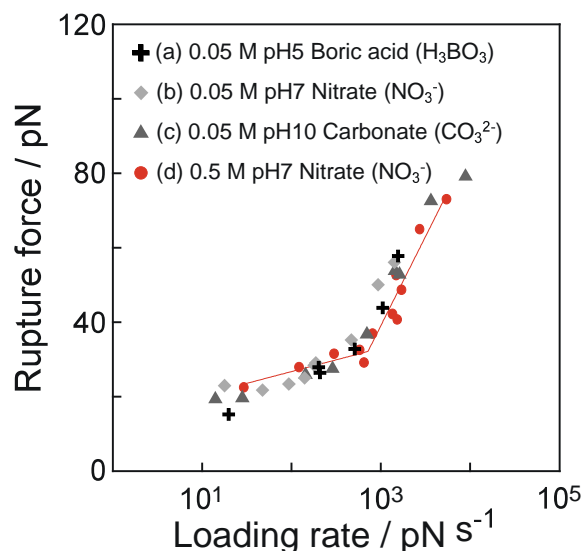
我々の研究グループではこのDFSに原子間力顕微鏡(AFM)を適用することによって、より正確な分子間相互作用の解析を行うことに成功した。[2-3]

今回、我々のグループでは分子対に幅広い応用と多くの研究報告のあるレセプター-リガンド対である Streptavidin-Biotin 対を選択し、分子がさらされている環境、特にバッファ溶液に含まれる分子種とその組み合わせ、濃度、pH によるポテンシャルカーブへの影響とその根源となるミクロな結合機構について測定と考察を行った。

Streptavidin-Biotin 対の分子間相互作用は、周囲に存在する分子種に強く依存することが分かっており、特に  $\text{PO}_4$  の存在下では結合確率や結合ポテンシャルに有意な変化が生じることが確認できた。これに加え、他分子種との競合存在下において  $\text{PO}_4$  の存在がごく微量であっても、 $\text{PO}_4$  の強い優位性を確認することができた。こうした測定・解析結果から推測したミクロな結合機構についての議論を行う。

### References

- [1] E. Evans and K. Ritchie: *Biophys. J.* **72** (1997) 1541.
- [2] A. Taninaka, et al., *Int. J. Mol. Sci.* **2010**, 11, 2134-2151.
- [3] A. Taninaka, et al., *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, 12, 12578-12583



力の増加速度とそれに対応する破断力の関係を表したグラフ。バッファによって二種類の直線があるということから結合が強く環境分子に依存していることが分かる。