

提出日:2021 年 5 月 6 日

2020 年度 Bio-SPM 技術共同研究事業

研究成果の概要

実験課題名		高速 AFM による動的な線維構造の可視化
申請者 (実験責任者)	氏名	林 郁子
	所属機関名・部局名	横浜市立大学大学院生命医科学研究科
	職名	准教授
利用した Bio-SPM 技術 (該当の技術の右欄に○)		<input type="checkbox"/> 超解像 AFM (FM-AFM 及び、3D-AFM) <input checked="" type="checkbox"/> 高速 AFM <input type="checkbox"/> SICM
NanoLSI 受入担当教員名		古寺哲幸
<p>細胞骨格を形成するタンパク質は線維構造を形成しヌクレオチドを加水分解しながら動力を発する。このタンパク質線維は動態を有し、遺伝子分配や細胞形態の維持など様々な局面で重要な役割を果たす。微小管線維は性質の異なる末端をもつ極性構造をとることで細胞の分極や形態を制御するが、この極性は微小管末端結合タンパク質により制御される。本課題では植物由来微小管マイナス端結合タンパク質 Spiral2 が微小管の末端に結合することでどのように線維の動態制御を行うかを明らかにすべく高速 AFM による観察を行った。まず微小管シーズを脂質膜上に固定化することを試みた。脂質 2 重膜に正電荷脂質 (DPTAP) を利用することで静電的に安定に吸着させることができたが、微小管の持続長が長いと塩濃度によっては微小管が分断されることが頻発した。そのため、塩濃度と DPTAP の配合の組み合わせを検討することで微小管シーズを穏やかに基板に載せることができた。ここにさらに Spiral2 を添加することで微小管への相互作用を解析した。</p> <p>また高速 AFM 観察において、微小管のプラス端とマイナス端を判別することが困難であることから、高い親和性で末端に特異的に結合する人工タンパク質を利用して、微小管を末端標識することを試みた。微小管と同じ径をもつビーズに微小管結合性人工タンパク質を結合させたところ、効率は悪いが微小管の末端標識を行うことができた。今後はこの手法を改良して、末端標識法を確立することを目指す。</p>		

※本様式 3 は、“事業成果報告”として、ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限:2021 年 5 月 7 日(金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先:金沢大学 WPI-NanoLSI Bio-SPM 技術共同研究事業担当係 E-mail: Bio-spmscr_nano@ml.kanazawa-u.ac.jp