

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：13301
研究種目：奨励研究
研究期間：2022～2022
課題番号：21H04127
研究課題名 AFM探針の化学修飾を基盤とする生命科学への展開

研究代表者

魏 威凜 (WEI, WEILIN)

金沢大学・ナノ生命科学研究所・国立大学技術職員

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 470,000円

研究成果の概要：本研究はAFMと有機合成化学を組み合わせることでケモセレクトティブなライゲーションを用いてタンパク質結合型のAFM探針の開発を行う目的とした。ジスルフィドを有する三脚分子を母骨格とし、先端にボロン酸グループを導入した新型分子を合成し、NMRや質量分析で分析した。本分子はポリペプチドと水溶液の中でも簡単に反応できる中間体である。これを用いて先端に色々なポリペプチドと反応させ、AFM探針の開発を継続して行っている。また、既存の三脚分子をAFM探針に付けAnnexinというタンパク質を観察したところ、AFM先端に三脚分子はどのようにして吸着しているのを解明するため、AFM先端にAuの塊をTEMで観察した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で化学修飾型AFM探針は、従来用いていたシリコンやカーボン製の探針よりも、原子間に働く力だけでなく、積極的に観察試料を走査し、基質-酵素複合体のような構造を検出することが期待できる。また、この手法を応用すると、いくつかの展望が考えられる。

1. 従来のAFM探針より自由度があり、多様な分野へ拡張できる。2. 修飾した探針が特異的であり、タンパク質とその酵素のように相互作用するため、試料中の不純物から検出された信号と区別しやすく、解析もしやすくなる。3. 膜タンパク質・LLPSなどの試料を染色することなく、蛍光顕微鏡よりも高分解能で観察できる。

研究分野：AFM・有機化学

キーワード：原子間力顕微鏡（AFM） AFM探針の化学修飾 三脚分子

1 . 研究の目的

原子間力顕微鏡 (AFM) は、試料表面のトポグラフィーをナノメートルスケール更には原子レベルで測定する手法であり、材料あるいは生体分子などのイメージングに利用されている。AFM 画像の解像度を決定する最も重要な要素は AFM カンチレバーと探針のサイズや性質である。従来の研究では、共振周波数の向上や探針先端の尖鋭化などの物理的な工夫により高速、高分解能イメージングの開発がなされてきた。更に近年は、この探針部分に化学修飾を行うことで、試料のトポグラフィーのみならず、化学認識が行えることがわかっている。本研究では、AFM と有機合成化学研究を組み合わせ、AFM 探針先端に三脚型の有機合成分子を結合させ、ケモセレクトィブなライゲーションを用いてタンパク質結合型の AFM 探針の開発を行う目的とした。

2 . 研究成果

ジスルフィドを有する三脚分子^[1]を母骨格とし、先端にホウ素誘導体を導入した新型分子の合成に成功し、NMR や質量分析で構造を同定した。本分子はポリペプチドと水溶液の中でも簡単に反応できる中間体である^[2]。これを用いて先端に色々なポリペプチドと反応させ、ケモセレクトィブなライゲーションを用いてタンパク質結合型の AFM 探針の開発を継続して行っている。

また、既存の三脚分子を AFM 探針に導入し、Annexin というタンパク質を観察したところ、市販の探針よりサブナノスケールの分解能が改善できなかった。この結果から、探針の先端に三脚分子がどのような配置で導入しているかを分析する必要がある。そのため、AFM 先端に Au をコーティングし、TEM で観察した。現在さらに、探針の先端に三脚分子は均一的、かつ適切な距離で導入できる分子の設計や修飾条件を最適化検討している。

参考文献

[1] Yamakoshi, Y. *et. al. Nanoscale*, **2015**, 7, 6599–6606.

[2] Bode, W. J. *et. al. J Am Chem Soc*, **2014**, 136, 5611-5614.

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Madhu Biyani, Kaori Yasuda, Yasuhiro Isogai, Yuki Okamoto, Wei Weilin, Noriyuki Kodera, Holger Flechsig, Toshiyuki Sakaki, Miki Nakajima, and Manish Biyani	4. 巻 14
2. 論文標題 Novel DNA Aptamer for CYP24A1 Inhibition with Enhanced Antiproliferative Activity in Cancer Cells.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Applied Materials & Interfaces	6. 最初と最後の頁 18064-18078
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsami.1c17708	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Soeta, T.; Kurobe, S.; Nirei, Y.; Kurokawa, N.; Wei, W.L; Yurtsever, A.; Fukuma, T.; Ukaji, Y.	4. 巻 25
2. 論文標題 Molecular Assembly and Gelating Behavior of (L)-Alanine Derivatives	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chemistry A European Journal	6. 最初と最後の頁 e202300455
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/chem.202300455	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 黒部 翔太、楡井 悠太郎、魏 威凜、Yurtsever Ayhan、福間 剛士、添田 貴宏、宇梶 裕
2. 発表標題 (L)-アミノ酸から誘導した機能性低分子ゲル化剤の開発とその物性評価
3. 学会等名 第20回ホスト・ゲスト・超分子化学シンポジウム
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名