

エバネッセント光を用いた分子結合の実時間観察

篠原史温

1. 研究の背景と目的

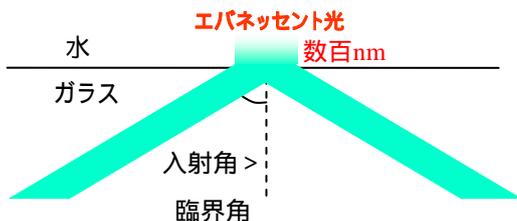
一般に分子相互作用は 1.熱運動による拡散 2.接触時に起こる結合 3.熱エネルギーによる解離という3つのプロセスをふむといわれており結合の起こりやすさの尺度として結合定数（平衡定数）を用いている。例えば $A + B \rightleftharpoons AB$ の結合では

$$\text{結合定数 } K = \frac{[AB]}{[A][B]}$$

と表される。しかしこれでは平衡状態の濃度について述べているだけで平衡に達するまでの時間は不明である。ある分子結合を、ナノマシンの分野に応用する際にはこのような「分子相互作用の動力学」が問題になる。そこで今回、分子間相互作用を実時間で観察することにより分子のダイナミクスを解明することを目的とする。

2. エバネッセント光とは

臨界角以上の入射角の条件で屈折率の大きい媒質から小さい媒質に光を入射すると全反射を起こすが、この時ガラス表面のごく近傍に弱い光がしみだす。この光をエバネッセント光と呼ぶ。



3. 実験原理

分子 A をガラス基板に固定しておいてから分子 B を流す。B はガラス面に近づいたときのみエバネッセント光で蛍光し、A と結合するときはガラス表面に固定されることになるので静止した輝点として観察される。B は解離するとエバネッセント光の届く範囲を往復するので点滅しながら動く輝点として観察される。

4. アミノシランに DNA を吸着させる実験

プラスに帯電するアミノシランをガラスに固定する。DNA はマイナスに帯電しているので静電気力で吸着する。

エバネッセント光の境界を往復することなく DNA が輝線として基板にはりついた。

このことからアミノシランは積極的に DNA をひきつけたことがわかる。



5. アビジンにビオチンを結合させる実験

アビジン（たんぱく質）1分子はビオチン（ビタミン）4分子と結合し、その結合定数は $K = 10^{15} \text{l/mol}$ である。

エバネッセント光の境界を往復しながら画面中を流れ、約 33%の分子が結合し、殆ど解離は起こらなかった。



6. アビジンにその抗体を結合させる実験

ビオチンとの比較をした。結合定数は $K = 10^9 \text{l/mol}$ 。

結合した分子は 26%とビオチンより少なかった。



7. 結論

エバネッセント場照明法によって

1. 拡散によって分子同士が接触したとき結合を起こす様子
 2. 分子同士が離れていても相互作用を起こし、互いにひきつけあう様子
- 以上のダイナミクスを観察することに成功した。