

高速原子間力顕微鏡による生体分子のナノ動態撮影

古寺 哲幸 〈金沢大学理工研究域 バイオ AFM 先端研究センター〉

内橋 貴之* 〈金沢大学理工研究域 数物科学系〉

安藤 敏夫* 〈金沢大学理工研究域 数物科学系〉

液中ナノメートルの世界は、生命現象を司る蛋白質や核酸 (DNA や RNA) といった生体分子が日夜活動している舞台である。それら生体分子は、時々刻々とその構造形態を変化させ、自分自身やその他の生体分子と動的に相互作用することで、その巧みな機能を発現している。機能に関わる構造形態変化のタイムスケールは、一般にミリ秒から秒のオーダーである。例えば本稿で紹介するミオシン V は、アクチン繊維上を約 36 nm 程度の歩幅で毎秒 15 歩程度歩くように移動する。(1 歩あたりは約 70 ms)。それゆえ、それらの機能メカニズムを詳細に理解するためには、機能している最中の生体分子の“構造”と“動き”を同時に観察することが非常に重要である。

生体分子はナノメートルオーダーと小さく、また、生理水溶液中でしか機能しない。このような極微の世界を見る装置としては、原子間力顕微鏡 (AFM) や電子顕微鏡、走査型トンネル顕微鏡があるが、このうち AFM のみが生理水溶液中で測定可能である。しかしながら、従来の AFM は“構造”の観測には適しているが、1 枚の画像を得るのに通常かかる時間が分のオーダーであるため、秒以下のタイムスケールで起こる生体分子の“動き”を“構造”と同時に観察することはできなかった。

そこで我々は、その同時観察を実現すべく、AFM の走査速度を飛躍的に向上させた高速 AFM を開発してきた。高速 AFM では、従来のタッピングモード AFM とデバイス群の構成は基本的に同じだが、走査速度を律している全てのデバイスの高速化が実現されている。中でも、生体分子を高速で観察するのに適した超小型カンチレバーや高速スキャナーを開発できたことが、

AFM の走査速度の飛躍的向上につながった。タッピングモード AFM において、カンチレバー探針が試料表面の情報を読み取る時間が短かければ高速性につながるが、それにはカンチレバーが高い共振周波数を持つ必要がある。また、生体分子は一般に脆く、それらを探針で壊さないようにするためには、小さいバネ定数を持つカンチレバーを作る必要がある。これら 2 つの要求を両立するためには、超小型のカンチレバーの開発が必須であった。一連の開発・改良により、1 枚の画像を最速で 30 ms (ビデオレート) 程度で、生体分子の機能を乱すことなく撮影できる世界最高性能の高速 AFM を実現した。

高速 AFM 開発完了後、いくつかの蛋白質系を対象に応用研究に取り組み、蛋白質分子が生き活きと機能している最中の振る舞いを直接可視化し、それらの機能メカニズムの詳細を理解することができた。例えば、ミオシン V の観察においては、ミオシンの運動を説明するにあたって古くから提唱されていたレバーアームのスイング運動を含むミオシン V の歩行運動を初めて視覚的に実証することに成功した。さらに、前脚の足踏み運動を新たに発見し、従来の常識を覆す運動メカニズムを提案することができた。

高速 AFM の誕生により、機能中の生体分子の“構造”と“動き”を同時に観察することが可能となった。今後、多くの生体分子の観察に応用されることにより、それらの機能メカニズムの解明が期待される。また高速 AFM は、生命現象に限らず、液中ナノメートル世界で起こる数多くの物理現象や化学現象を理解する上で有用な可視化技術となるであろう。

—Keywords—

ミオシン V :

代表的なモーター蛋白質の 1 つ。細胞の中でアクチン繊維 (アクチン蛋白質が多数重合し糸状になったもの) に沿って荷物 (細胞内小胞など) を運搬している。

原子間力顕微鏡 (AFM) :

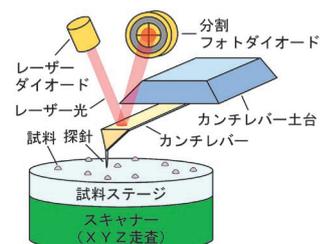
カンチレバーと呼ばれる板バネの先端に付いた鋭い探針で試料表面をなぞることで試料表面の凹凸を画像化する顕微鏡。探針が試料表面と直接相互作用をするため、観察環境や試料を選ばないという他の高空間分解能顕微鏡にはない特徴を持つ。(下図参照。)

タッピングモード :

AFM の測定方法の 1 つ。カンチレバーに付いた探針を上下方向に強制振動させ、試料表面を間欠的に叩きながら (タップしながら) 表面の凹凸情報を測定する方法。強制振動の周波数は一般にカンチレバーの共振周波数を用いる。探針の走査に伴う横方向の力がサンプルに働きにくいいため、基板表面に弱く固定されているサンプルや脆い生体分子の観察に広く用いられる。

レバーアームのスイング運動 :

ミオシンの脚をテコ (レバーアーム) に見立て、それがミオシンとアクチン繊維の結合部位を支点として回転する運動様式。



AFM の動作原理を説明する模式図。カンチレバーで反射したレーザー光を分割フォトダイオードで受け、カンチレバーの変位を知る。

* 兼 バイオ AFM 先端研究センター