

「タンパク質の動的プロセス – 高速 AFM によるアプローチ」

金沢大学理工研究域数物科学系・安藤敏夫

科学の発展の歴史を振り返ると、従来見えなかったものを見えるようにしてきた数々の先人の偉業がある。タンパク質分子の動的振る舞いを知りたいという欲求から生まれた 1 分子生物学もその一例であろう。しかし、光学顕微鏡をベースとする 1 分子生物学では、タンパク質分子そのものは観察に現れない。タンパク質の構造・形態は、X 線結晶構造解析、電子顕微鏡、NMR、原子間力顕微鏡 (AFM) によって調べられるが、得られる構造は静止構造である。構造とダイナミクスを同時に知ることができない。

生命科学を長く支配してきたこの限界を克服することを目指して、安藤研では高速 AFM の開発を 1993 年頃から開始し、2008 年に実用レベルの装置を完成させた[1, 2]。AFM は尖った針の先で試料に触る顕微鏡である。試料の 1 点の高さ情報を得るのに、カンチレバーのたわみ（あるいは振幅）を計測し、その計測値と目標値とを比較し、それらの差がゼロになるように（すなわち、探針・試料間にかかる力を一定にするように）試料ステージを高さ方向にフィードバック走査する（図 1 参照）。これを観察範囲全体に亘って 1 点 1 点繰り返すので、試料の形状情報を得るのに時間がかかる。我々は、フィードバックループに含まれるすべてのデバイスの応答速度を上げることで従来に比べ 1 千倍の高速性能を達成し、更には、フィードバック制御を工夫して、探針を試料に軽く接触させても高速性能を損なわないようにすることにも成功した。イメージング速度はフィードバック帯域の外にも、走査範囲や走査線の数にも依存するが、例えば、250 nm 四方、100 本の走査線の条件で、1 画像を 40 ms 程度で撮ることができる。しかも、ナイーブなタンパク質間相互作用を乱すことはない。

上記の性能は、働いているタンパク質の現場を実際に撮影することで実証された。例えば、光に応答して構造変化するバクテリオロドプシン[3]（図 2）、アクチンフィラメント上を歩行運動するミオシン V[4]（図 3）、ATP を分解して反時計回りに構造変化を伝播させる F1-ATPase（回転軸である γ サブユニットを除去）[5]、セルロースを分解するセルラーゼ[6]などが動画として撮影された。既に確証されていた分子の振る舞いも映像に現れるが（新技術の信頼性を示すにはこのことは必須であり、単なる追試ではない積極的な意義をもつ）、従来技術では見出されなかった振る舞いも現れる。その結果、機能する仕組みの詳細が明らかにされ、機能中の分子の振る舞いについて更に詳細な議論への道を開いた。この新しい研究手法は今後ますます盛んに利用され、構造生物学と 1 分子生物学を変革していくものと予想される。

- [1] Ando, T. *et al.*, A high-speed atomic force microscope for studying biological macromolecules, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 12468-12472 (2001).
- [2] Ando, T., Uchihashi, T., & Fukuma, T., High-speed atomic force microscopy for nano-visualization of dynamic biomolecular processes, *Prog. Sur. Sci.* **83**, 337-437 (2008).
- [3] Shibata, M. *et al.*, High-speed atomic force microscopy shows dynamic molecular processes in photo-activated bacteriorhodopsin, *Nat. Nanotechnol.* **5**, 208-212 (2010).
- [4] Kodera, N. *et al.*, Video imaging of walking myosin V by high-speed atomic force microscopy, *Nature* **468**, 72-76 (2010).
- [5] Uchihashi, T. *et al.*, High-speed atomic force microscopy reveals rotary catalysis of rotorless F1-ATPase, *Science* **333**, 755-758 (2011).
- [6] Igarashi, K. *et al.*, Traffic jams reduce hydrolytic efficiency of cellulose on cellulose surface, *Science* (in press).

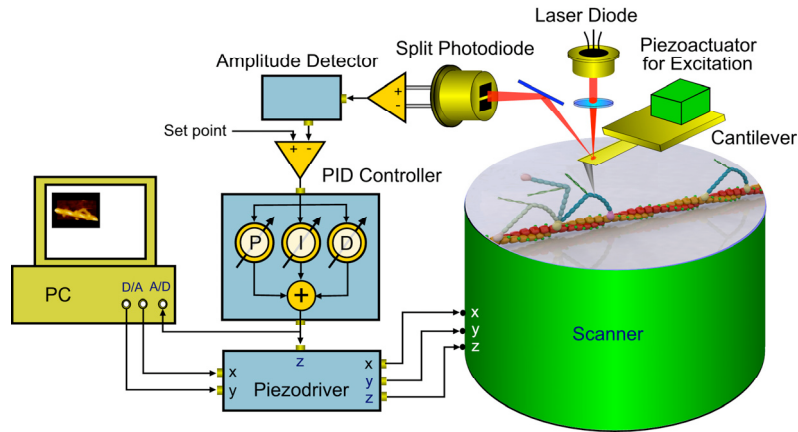


図 1 AFM 装置の模式図

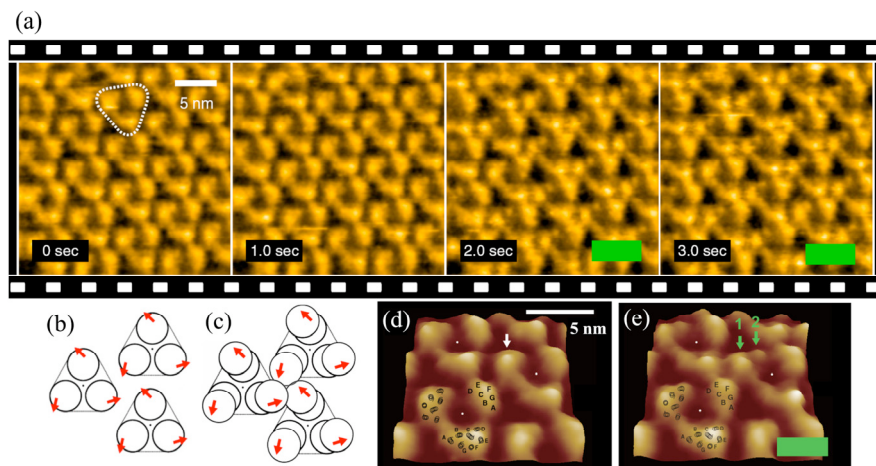


図 2 光に応答する bR を捉えた高速 AFM 像

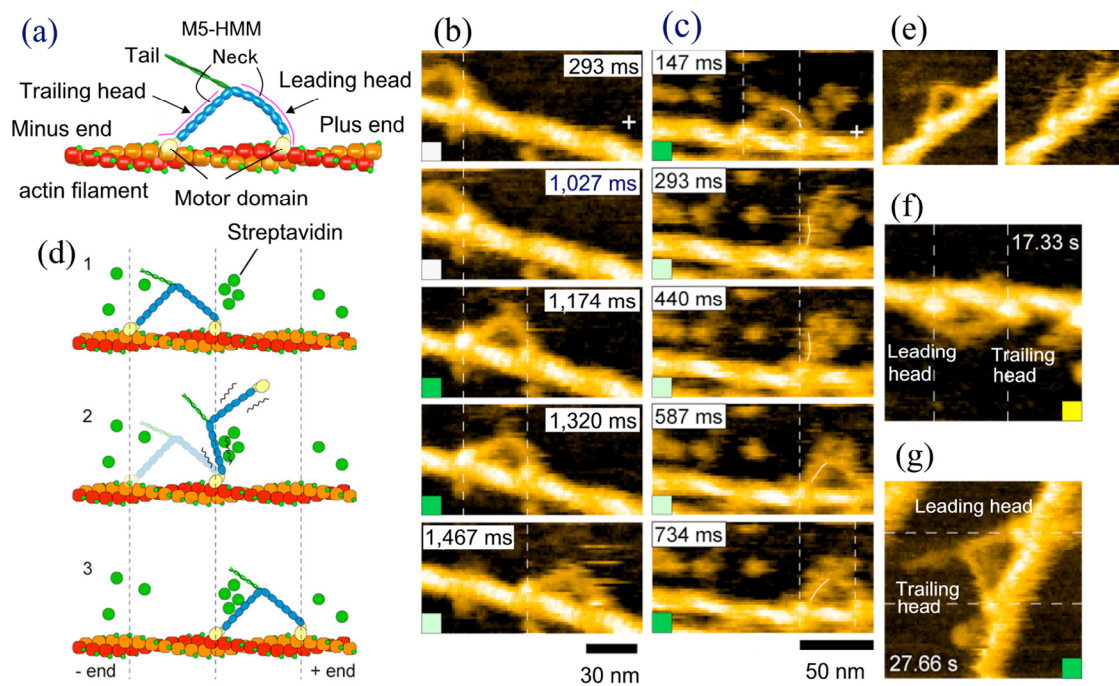


図 3 ミオシン V の歩行運動などを捉えた高速 AFM 像