

内橋貴之教授

\*内橋貴之 教授 Takayuki Uchihashi, Prof.  
村上 緑 講師 Midori Murakami, Lecturer

生命活動を担うタンパク質や核酸などの生体高分子は、活性部位での化学反応に伴う構造変化と局所的な物性変化、生体分子間の相互作用などの様々なレベルのダイナミクスにより独自の機能を発現しています。したがって、生体分子が機能する仕組みを理解するためには、分子の立体構造とその時間発展や、周囲の分子と相互作用している様子を追跡できる顕微鏡技術が非常に有効であると考えられます。当研究室では生体分子が働いている様子をリアルタイムで可視化できる顕微鏡技術を開発するとともに、生体分子機能の分子機構を明らかにするための研究を行っています。また、光受容体ロドプシンの光活性化の分子機構を明らかにすることを目標に放射光およびX線自由レーザーを用いた結晶構造解析を行い、ここから得られた高精度の構造情報に基づき新しい機能を持った光駆動タンパク質を創成することに挑戦しています。

#### 高速原子間力顕微鏡の開発とタンパク質の動態解析

生体分子の機能と構造を調べるために、これまで生化学的分析手法、分光学法、光学顕微鏡法やX線回折、NMR等の様々な分析・計測手段が開発されてきており、多分子の平均としての分子の生理作用や原子レベルの構造情報を得る基本技術は確立し広く用いられています。また、蛍光顕微鏡や光ピンセット技術により一分子の振

舞いを計測したり、分子を操作する手法も確立しています。しかしながら、これら従来技術で計測されるのは“信号”であり、分子そのものの“動態”を直接観察することはできませんでした。生体分子の機能解明において最も不足している情報は、個々の分子の構造や物性のダイナミクスであり、その情報を得るためにはナノスケールの高い空間分解能と高速性を併せ持つ新しい顕微鏡技術の開発が必要です。

原子間力顕微鏡 (Atomic Force Microscopy : AFM) は1986年にスイスで発明された顕微鏡で、試料表面の構造をナノメートルスケールで観察することができます。観察条件によっては原子1個をも解像できる高い空間分解能を持っているため、半導体や金属などの無機材料から有機分子や生体試料などの幅広い試料の観察に利用されており、ナノサイエンスに欠かせないツールになっています。AFMは柔らかい板バネ (カンチレバー) 先端についた針を試料の1点に接触させて針と試料に働く力を検出しながら二次元スキャンすることで、分子全体の形を直接見る顕微鏡で、液中にある分子でも見ることができます (図1)。AFMを使ってこれまで様々なタンパク質の構造が溶液環境下で観察されてきましたが、1点1点の接触を分子全体にわたって行うには相当の時間がかかるため、分子の動きを追うことはできませんでした。また、針の接触が分子を壊したり、分子の動きを妨げたりしてしまうという問題を抱えていました。

当研究室ではAFMの撮像速度を飛躍的に向上できる高速AFMの技術開発を行っています。1点1点の接触動作や接触の検出を高速化するために、微小カンチレバーや試料を3次元に動かす高速スキャナー、スキャナーの振動を抑制する技術、カンチレバーの動きを高速かつ高感

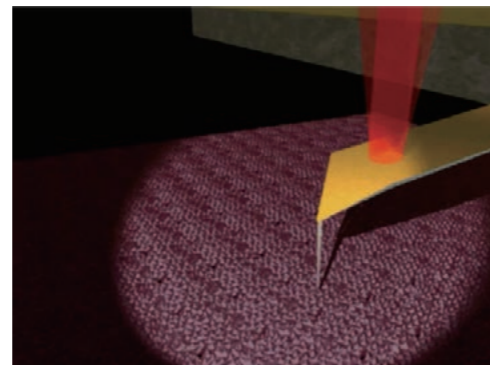


図1 AFMの原理：板バネについた針と試料の間に働く力を板バネのたわみとしてレーザー光で検出する。



D研の構成員

度に検出するセンサーなどを開発するとともに、針を試料に優しく接触させる制御技術、装置を制御するソフトウェア開発など、様々な工学技術を総動員して開発を進めています。これにより、これまでアンサンプル平均あるいは静止画としてしか観測できなかった生体分子の構造をリアルタイムで可視化できるようになり、いろいろなタンパク質のダイナミクスを可視化することに成功しています (図2)。“百聞は一見に如かず”という諺がありますが、現象をまず「観る」ことは科学の原点で、動画には多くの情報が含まれています。これまでさまざまな計測手法を駆使して明らかにされてきた事実や仮説を高速AFMによる1回の観察によって視覚的証拠として一目瞭然に明らかにすることができます。

#### 高速AFMの機能拡張のための技術開発

AFMはタンパク質のような小さな分子だけでなく、細胞のようにサイズの大きな試料の表面構造も観察することができます。数ミクロン以上の広い範囲を高速にスキャンする技術開発によって、細胞表面の形態変化を高い空間分解能で観察することができ、高速AFMの応用範囲を細胞生物学分野にも拡大することができます (図3)。また、蛍光顕微鏡のような他の一分子観察技術との複合化によりAFMでは可視化できない情報を得ることができま

す。例えば、蛍光色素一分子を観察できる全反射蛍光顕微鏡との複合化によって、蛍光顕微鏡で基質の結合や解離などの化学反応を計測しながら、同時にAFMで化学反応に共役した構造変化を可視化できるようになり、タンパク質の化学-力学エネルギー変換の分子機構について調べることができます。このようにAFMと最先端の分析技術の同時・同視野観察を実現することで、多角的な情報を取得できるようになり、生体分子の機能発現の理解がより進みます。

#### さいごに

当研究室では、AFMをベースとした計測装置の技術開発とタンパク質の動態解析への応用、視物質ロドプシンの高分解能時間分解構造解析を研究テーマとし活動を行っています。最近では、生体分子だけでなく人工超分子の観察も始めており、そのための技術開発も進めています。これらの研究テーマを軸として希望と適性にあった研究を行ってほしいと考えています。応用研究のほとんどは国内外の研究機関との共同研究で行っています。外部とのやりとりも含め自立して研究を進めるとともに、自由な発想で独自の研究を切り拓くことのできる学生を歓迎します。

<http://d.phys.nagoya-u.ac.jp/>

\*連絡先 uchihast@d.phys.nagoya-u.ac.jp

教授：1/講師：1/DC：1/MC：4/研究員：2

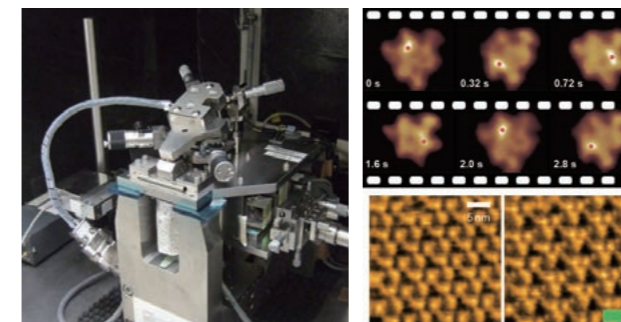


図2 高速AFM (左)と応用例 (右上：回転分子モーターの構造変化、右下：光受容膜タンパク質の光照射前後の構造変化)。

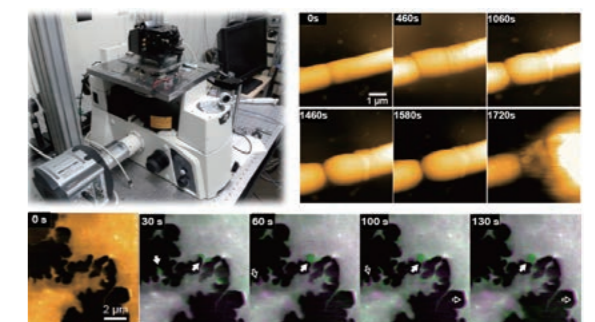


図3 高速AFM / 蛍光顕微鏡複合機 (左)と応用例 (右上：バクテリアの溶菌過程、下：哺乳類細胞の形態変化)。