

生体ナノマシンにおける極微弱相互作用計測法の研究開発 (0221018)

Development of the microforce measurement technique for bio-nanoparticle research

小嶋 寛明 情報通信研究機構・関西先端研究センター
Hiroaki Kojima Kansai Advanced Research Center, NICT

研究期間 平成 14 年度～平成 16 年度

概要

生体内に存在する蛋白質分子は、熱揺動と同程度の小さな入力エネルギーを有効に利用することにより、互いに相互作用しながら高度な機能を発現するナノマシンである。当研究では、この機能発現の原理を探るため、モータ蛋白質などの分子間あるいは分子内に働く極微弱な相互作用を、熱揺らぎや力発生に伴う探針の位置の不確定性を排除して計測する系の構築を目指し、光が物体におよぼす力を利用したフィードバック制御技術を開発することにより、探針の位置をナノメートルの精度で制御しながらピコニュートンレベルの力を測定することのできる系の構築を行った。さらに、この系を用いてモータ蛋白質分子が生きた状態で発生する力を実際に測定し、系が生体分子にとって必須である溶液中という条件において有効に機能することを示した。

Abstract

To detect the inter bio-nanoparticle communications, it is crucial to suppress the thermal and external agitations exerted on the probe and the particle. Here, we have developed the system to measure subtle interaction between the probe and nanoparticle while keeping the relative position between them by controlling the position of the probe for force detection with nanometer accuracy by laser radiation pressure.

生体内で、筋収縮やべん毛運動、原形質流動などの'動き'を分子レベルで司っているモータ蛋白質は、一般に、大きさ数十ナノメートル程度のナノマシンであり、レール状の蛋白質の上を ATP の加水分解時に得られる熱エネルギーレベルの小さな入力エネルギーを利用して滑走することにより動作する。この動作機構を解明することは、学問的な見地からはもちろんのこと、人工ナノマシンなどの微小な機械を開発するためのヒントを得るためにも重要であると考えられる。近年、一分子レベルでの分子間相互作用時に発生される力や変位を高分解能で調べる研究が、探針として微小なビーズを用いた光ピンセット法や微小なカンチレバーを用いた高感度の原子間力顕微鏡によって盛んに行われており、モータ蛋白質分子の力発生過程に関して様々な情報が蓄積されつつある。これらの測定法は高感度であるが故に一分子の振る舞いを直接見ることが可能としたが、その反面測定プローブがモータ蛋白質分子のスケールを超えた大きな熱ゆらぎにさらされること、および相互作用に伴って探針自体が変位することが原因となり、測定時にモータ蛋白質分子とレール状蛋白質分子間の長軸に沿った位置関係を正確に制御することが現在のところ不可能となっている。したがって、モータ蛋白質分子が機能している際に発生する能動的な力は未だ測定されていないと言える。そこで本研究では、まず探針位置のゆらぎをフィードバック制御によってモータ蛋白質分子スケールにまで抑えることのできる装置の研究開発を行う。次にこれを用いて測定プローブの位置を固定しながらモータ分子間の位置関係を正確に把握した上で発生する能動的な力を高感度測定し、レール状蛋白質に沿った分子間相互作用をマッピングして生体ナノマシンの動作機構を解明するための情報を蓄積することを目標とした (図 1)。

これを実現するために当研究では、(1) 市販の原子間力顕微鏡の 1000 倍の力検出感度を持つカンチレバーを作成すること、(2) カンチレバーの先端の位置を光の放射圧を駆動力とするフィードバック制御によってナノメートルオーダー精度で位置決めすること、(3) サンプル基板面に対して平行な向きの力を検出可能とすること、(4) 水溶液中において測定可能とすること、(5) 一分子蛍光測定のを組み入れることを技術開発目標として掲げ、これらの特徴を備えた超高感度探針位置制御技術の創出を行った (図 2 左)。その結果、水溶液中において、基板に平行な向きに発生する微小な力を、探針の位置を 1 nm 以下の精度で制御しながら、感度 0.5 pN で検出することに成功するとともに (図 2 右)、この系で一個の蛍光分子をビデオ像として検出できることを示した。さらに、生体分子の機能解析への応用の試みとして、モータ蛋白質分子であるキネシン - 微小管の間に働く力の検出を行い、これらの相互作用を実際に測定することに成功した。

当研究開発の成果によって、モータ蛋白質研究の分野では今まで測定することが不可能であった分子間相互作用の蛋白質

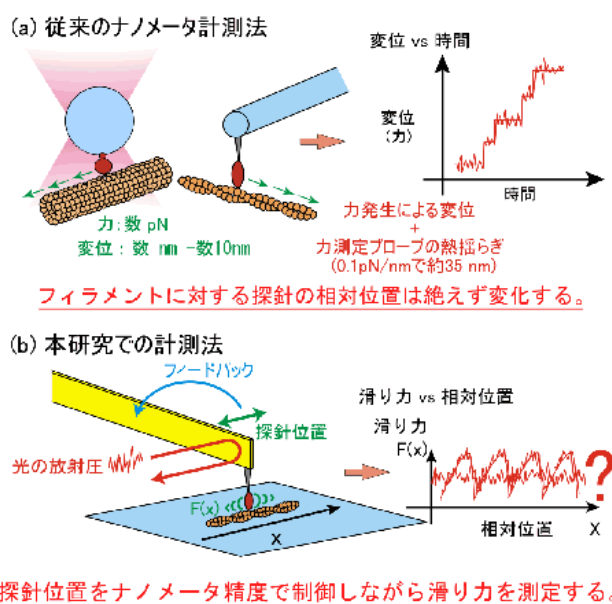


図 1 本研究課題の目標

子フィラメントに沿ったマッピングを可能とする道筋を開拓した。これにより相互作用のポテンシャルプロファイルが描出されると、数学的なモデル化が可能となり、ノイズレベルの入力エネルギーを用いて高い効率で動作するモータ蛋白の動作機序に関する理解は一層深まる。さらにこの結果は人工的なナノマシン設計へと活用できる。開発された装置そのものは既存の原子間力顕微鏡の1000倍の感度を持ち、かつ一分子を直接見ながらマニピュレーションする能力を備えているので、分子のフォールディング力の測定や、分子レベルでの摩擦力の測定などに応用できる。

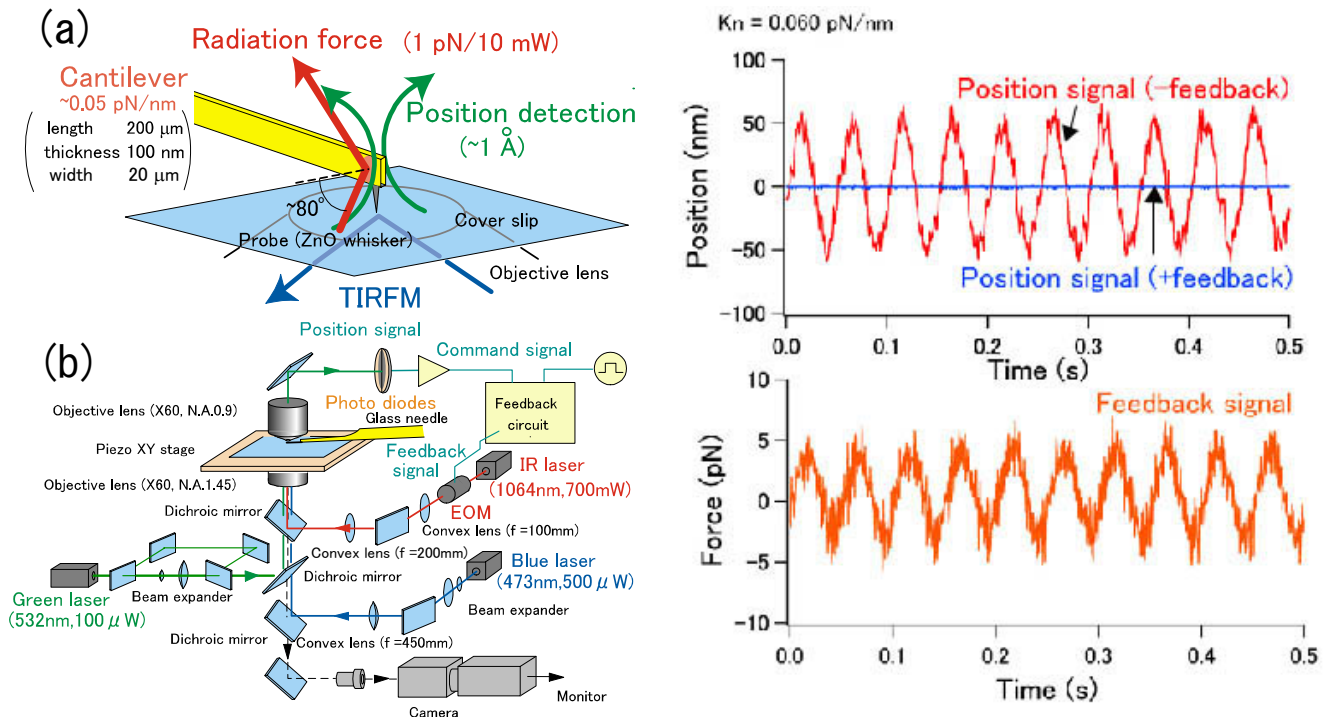


図2 左) 超高感度探針位置制御システム。(a) 標本近傍の拡大図。(b) 装置構成の全体図。 右) フィードバック制御により検出された外力。(上) フィードバック制御オフ時とオン時の探針の位置変化。カンチレバーの根元をピエゾ素子により100 nm 振幅で振っている。(下) フィードバック制御オン時に検出されたフィードバック信号。探針位置はフィードバック制御によって固定されながらも(上: +feedback トレース)、そこにかかる外力は検出されている。

誌上发表リスト

- [1] Seitz A, Kojima H, Oiwa K, Mandelkow EM, Song YH, Mandelkow E “Single-molecule investigation of the interference between kinesin, tau and MAP2c”, *Embo J* Vol.21 No.18 pp4896-905, (2002). 被引用度数: 16
 - [2] Kojima H, Kikumoto M, Sakakibara H, Oiwa K “Mechanical properties of a single-headed processive motor, inner-arm dynein subspecies-c of Chlamydomonas studied at the single molecule level.”, *J Biol Phys* Vol.28 pp335-345, (2002). 被引用度数: 2
 - [3] Tominaga M, Kojima H, Yokota E, Orii H, Nakamori R, Katayama E, Anson M, Shimmen T, Oiwa K “Higher plant myosin XI moves processively on actin with 35 nm steps at high velocity.”, *Embo J* Vol.22 No.6 pp1263-72, (2003). 被引用度数: 10
- 他 2 編

申請特許リスト

- [1] 小嶋寛明、大岩和弘、Bernhard Brenner、微小力測定装置、日本、平成15年2月26日出願
 - [2] 小嶋寛明、大岩和弘、Bernhard Brenner、微小力測定装置、日本、平成15年4月10日出願
 - [3] 小嶋寛明、微小力測定装置、微小力測定方法、日本、平成16年2月26日出願
- 他 0 件申請

登録特許リスト

- [1] Kojima,H., Oiwa, K., and Brenner,B., Microforce measurement method and apparatus, U.S.A., filing date 10/02/2002, date of patent 10/19/2004, patent no. US 6,806,985 B2
- 他 0 件登録