



各報道機関文教担当記者 殿

### バイオAFM分野の世界的拠点形成をめざす 理工研究域バイオAFM先端研究センター設置

金沢大学理工研究域では、平成22年10月1日付けで金沢大学発の世界最先端のバイオAFM技術の強みを一層強化し、バイオAFM分野の世界的拠点形成を目指す「バイオAFM先端研究センター」を設置しました。センター設置を記念し、上掲式を行いますので、お知らせします。

ついては、当日の取材報道をお願いいたします。

#### 金沢大学理工研究域バイオAFM先端研究センター上掲式

1. 日時 平成22年10月19日(火) 10:30～(15分程度)
2. 場所 自然科学5号館玄関(事務管理棟側)(金沢市角間町)
3. 出席者 中村 信一 学長  
長野 勇 理事(研究・国際担当)  
山崎 光悦 理工研究域長  
安藤 敏夫 バイオAFM先端研究センター長 外

取材の際は、自社腕章を必ず着用をお願いします。

#### 【参考】

本センターの安藤敏夫教授(センター長)と小寺哲幸助教らの研究グループは、「タンパク質の構造動態を直接高解像撮影することに成功し、英科学誌Nature(平成22年10月10日付電子版)に論文が掲載されました。

#### 【本件照会先】

角間南地区事務部総務課長 橋本  
Tel: 234-6809

#### 【担当】

広報戦略室 松本  
Tel: 264-5024

# 金沢大学理工研究域バイオ AFM 先端研究センター

(Bio-AFM Frontier Research Center)

センター長：安藤 敏夫教授

金沢大学発の世界最先端のバイオ AFM 技術の強みを一層強化し、バイオ AFM 分野の世界の拠点形成を目指す。バイオ AFM 研究という先端的研究分野に集中し、部門間の連携と海外との共同研究を積極的に推進し、この目標を実現する。技術はサイエンスの発展を支える基盤であるが、技術それ自身の開発が最終目的ではない。その技術を使って従来技術では解明が困難な生命現象を解明することこそが重要であることを強く意識し、先端 AFM 技術の応用展開を強力に進める。また、生まれる先端技術の事業化を推進するために、国内外の企業との共同研究を推進する。

補足：バイオ AFM の研究では金沢大学が世界をリードしており、先進的な外国に学ぶという我が国に従来見られる立場に我々はいない。バイオ AFM 研究で世界をリードし続けることこそ、我々に課された最重要課題である。海外の研究機関に我々の先端技術を普及させ、共同研究を進めることにより、本センターを国際的な研究拠点にすることができる。

## 1) 高速 AFM 研究開発部門 (High-speed AFM R&D Division)

部門責任者：安藤 敏夫教授

高速 AFM 技術を高度化するとともに、次世代高速 AFM を開発する。分子・細胞研究部門と協力し試験的イメージング研究を進めつつ、バイオのニーズに合った技術開発を進める。

## 2) イメージング研究部門 (Imaging Research Division)

部門責任者：安藤 敏夫教授

確立した高速 AFM・超解像 AFM を生体分子や細胞の先端研究に応用し、他の手法では困難な生命現象の解明を進める。(他の部門の成果を最終的なバイオ研究の成果として結実させる点で最も重要且つ外部から最も注目される部門である)

## 3) 超解像 AFM 研究開発部門 (Super-resolution AFM R&D Division)

部門責任者：福間 剛士特任准教授

超解像 AFM 技術を高度化するとともに、次世代超解像 AFM を開発する。超解像 AFM の応用展開を分子・細胞研究部門と協力して進める。

## 4) 分子・細胞研究部門 (Molecule & Cell Research Division)

部門責任者：福森 義宏教授

バイオ AFM 技術の効果を最大限発揮できる生命現象・生物試料を開拓し、イメージング研究部門と協力し、先端的バイオ AFM 研究を発展させる。バイオ研究における先端的ニーズを分析し、高速 AFM 研究開発部門と超解像 AFM 研究開発部門の技術開発に活かす。



タンパク質の構造動態を直接高解像撮影することに成功(モータータンパク質が動く仕組みを解明)

本学理工研究域数物科学系の安藤敏夫教授と古寺哲幸助教らの研究グループは、世界最高性能の高速原子間顕微鏡(高速 AFM)を開発し、アクチンフィラメント※1に沿って動くミオシン V 分子※2の振舞いを直接高解像撮影することに世界で初めて成功し、科学誌「Nature」(10月11日(ロンドン)付電子版)に論文が掲載されました。

※1 細胞内で繊維状構造を作る細胞骨格の1つで、アクチン分子が2重螺旋で重合したもの。ミオシンと共同して細胞内で力を発生するとともに、重合・脱重合により細胞運動を起こす。

※2 ミオシンスーパーファミリーに含まれるタンパク質のひとつ。アデノシン3リン酸の加水分解のエネルギーを利用して、アクチンフィラメントに沿って1分子で連続的に運動する。

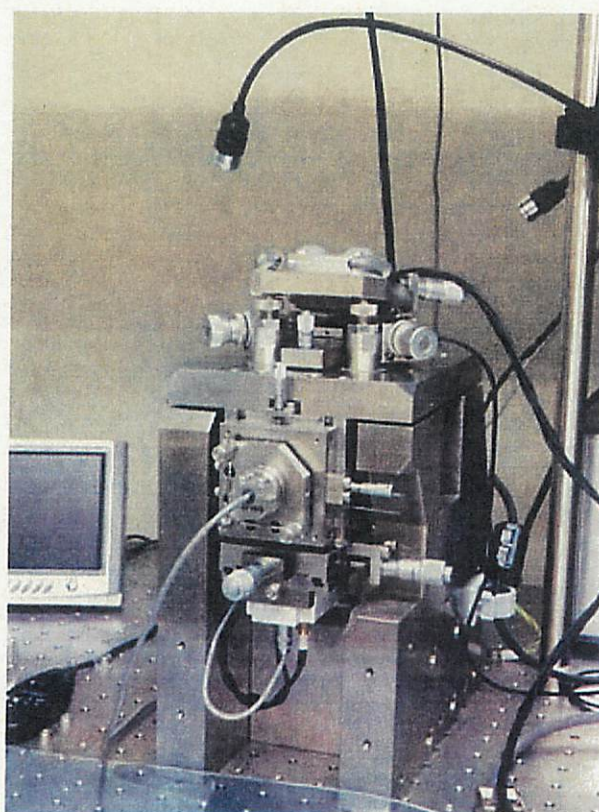
高速 AFM は、様々な生体分子の機能する仕組みを従来よりも詳しくかつ短時間で明らかにすることができ、生命科学の基礎研究に限らず、液中で起こる様々なナノメートルスケールの現象の解明に役立つことが期待されます。

・「Nature」のホームページ → <http://www.nature.com/>

・「Nature」(10月10日付電子版)の該当記事 ↓

<http://www.nature.com/nature/journal/vaop/ncurrent/full/nature09450.html>

・論文の要約 → 添付資料



高速原子間顕微鏡(高速 AFM)



## “Video imaging of walking myosin V by high-speed atomic force microscopy” (歩行運動するミオシンVの高速原子間力顕微鏡によるビデオイメージング)

### <研究の背景と経緯>

タンパク質の構造はX線結晶構造解析、電子顕微鏡、NMR、原子間力顕微鏡 (AFM) によってこれまで調べられてきましたが、得られる構造情報は実質的に静止構造でした。一方、タンパク質分子の動的振舞いは主に蛍光顕微鏡で観察されてきましたが、蛍光顕微鏡による観察ではタンパク質分子そのものは現れません。従って、タンパク質の構造とダイナミクスを同時に観察することはできません。この技術的限界は、タンパク質が働く仕組みの包括的な理解を妨げてきました。それ故、分子の形とその動きを同時に見ることのできる技術が待望されていました。

### <研究の内容>

AFMは柔らかいレバー (カンチレバー) 先端に付いた針を試料の1点1点に接触させて、分子全体の形を直接見る顕微鏡で、液中に在る分子でも見るができます (図3)。ですが、1点1点の接触を分子全体に亘って行うには相当の時間がかかるため、分子の動きは見えませんでした。また、針の接触が分子を壊したり、分子の動きを阻害してしまうという問題を抱えていました。本研究グループは、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、試料台を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、レバーの動きを高速且つ高感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など、多くの技術開発を進めてきました。その結果最近になり、理論限界にほぼ近い世界最高性能の高速AFMを開発することに成功しました (図1)。

今回、この新しい顕微鏡を最もダイナミックなタンパク質であるモータタンパク質ミオシンVに適用しました。ミオシンVは等価な2本の脚状構造をもち、細胞内では物質輸送を行っています。それぞれの脚はモータドメインと長いネックから成っています (図2c)。モータドメインにはアクチンに結合する部位とATP<sup>注5)</sup>をADPとPi (無機リン酸) に加水分解する部位があります。これまで蛍光観察手法などによりミオシンVは集中的に研究され、アクチンフィラメントに沿って約36nmのステップで、ハンドオーバーハンド様式 (人が歩くように2本の脚が交互に前進する様式) で連続的に運動することが既に知られていますが、この歩行中の分子の振舞いや前進運動を駆動する張力発生メカニズムの詳細はよく分かっていませんでした。

ATP存在下でのこの歩行運動を2-3nmの空間分解能、140msの時間分解能の映像として捉えることに成功しました (図2; 全ての映像データは論文のSupplementary MoviesとしてNatureのホームページで見ることができます。また、[http://www.s.kanazawa-u.ac.jp/phys/biophys/M5\\_movies\\_j.htm](http://www.s.kanazawa-u.ac.jp/phys/biophys/M5_movies_j.htm)でも見ることができます)。アクチンに2本の脚で結合して静止状態にいる場合には、両脚は「ハの字」のように開いています (図2a, c)。ここでは、「ハの字」に開いた両脚のうち前進方向にある前脚の向きを「前向き」、前進方向とは反対側にある後ろ脚の向きを「後ろ向き」と呼ぶことにします。歩いているミオシンVの分子映像により、既知の事実 (歩幅やハンドオーバーハンド運動) に直接的な視覚的証拠が与えられただけでなく、前進運動や力発生が実際にどのように起こっているかが明瞭に解明されました: (1) 前進駆動は前脚の前方への屈曲ではなく、「前向き」から「後ろ向き」への回転で起こること (図2b, d)、(2) 2本脚でアクチンに結合すると、



前脚は「前向き」で強制的にアクチン結合させられる結果、前脚には回転のための張力が発生すること、(3) 後ろ脚がアクチンに結合しているとその張力による前脚の回転は抑えられています、後ろ脚がアクチンから解離することでこの抑制が外れて、前脚は蓄えられていた張力を使って自動的に回転すること、(4) この前脚の回転により、2つのネックが繋がった部分が前方に回転する結果、アクチンから離れた後ろ脚は前方に引っ張られること(図 2b, d)、(5) これまで提唱されてきたいくつかのモデルでは後ろ脚はアクチンに接触しながら前方へ移動する(すなわち、後ろ脚が移動の力を出している)と想定されていましたが、実際にはアクチンから大きく離れていること(図 2b, d)、(6) この前方への移動後、後ろ脚は前脚を越して前方のアクチンに結合し1歩の前進が完了すること。こうして、1歩前進する間に起こる分子の振舞いのすべてが分子映像に現れ、特に前方への駆動力は前脚が「前向き」でアクチンに結合することによって生じ、後ろ脚のアクチンからの解離で、前脚は自動的に前方へ回転することが分かりました。

ところで、前方への移動は前脚が前方への力を出しているからで、後ろ脚が蹴ることによるのではないことがはっきりしましたが、どうして歩くように等価な2本の脚を交互に移動させることができるのでしょうか。この疑問に対する答えも明確にすることができました。ATPやADP(ヌクレオチド)が前脚に結合している場合には、前脚はほぼ真っ直ぐな形をとるのに対して(図 2a, e)、ヌクレオチドが結合していない場合には前脚は鋭く前方に屈曲することが分かりました(図 2f)。すなわち、前脚の形を見ると前脚にヌクレオチドが結合しているかどうか分かります。歩いている分子では前脚はほぼ真っ直ぐなので、前脚にはヌクレオチドがおそらく結合したままであることが推測できます。そこで、色々な濃度のADP存在下で前脚が真っ直ぐな形をとっている寿命を測定したところ、平均で10秒間に1回だけADPが前脚から解離することが分かりました。10秒間にミオシンVは何歩も歩くので、推測通り、歩いている間ADPは前脚から解離していないことになります(言い方を換えれば、ADPが解離する前に前脚は新しい後ろ脚になってしまう)。従って、ADPの解離、それに続く新しいATPの結合、その結果起こるアクチンからの解離は後ろ脚でしか起こらないということがはっきりしました(ADP解離の非対称性<sup>注6)</sup>)。前脚はADPを結合したままなのでアクチンから解離しないのに対して、後ろ脚は新しいATPを結合してアクチンから解離します。解離すると、前脚が出す張力により前方に引っ張られて前方に移動し、前方のアクチンに結合して後ろ脚は新しい前脚になり、前脚は新しい後ろ脚になります(すなわち一歩前進)。こうして、ミオシンVが歩いて前方に移動する仕組みが直接的、且つ、視覚的に証明されました。

ところで、ヌクレオチドが結合していない場合、前脚は屈曲しますが、前脚からはADPは解離しないので、この屈曲は前進運動とは無関係だということも分かります。更には、これまで全く認識されていなかったFoot Stomp<sup>注7)</sup>という振舞いを発見しました。説明は省きますが、Foot Stompの発見により、ADP-PiからPiが解離して初めて張力が生ずるという従来の説は成り立たなくなり、Piの解離を経なくても、ADPを結合した前脚がアクチンに直接結合することでも分子内に張力が発生し、その張力で前進運動が実際に起こることが証明されました。

## <今後の展開>

ミオシンVの動的振舞いを高い空間時間分解能で観察できたことは世界初の成果ですが、ダイナミックな分子プロセスの映像中に多くの事実を同時に見出すことができ、また、視覚的情報は直接的で分かりやすいため、高速AFMはミオシンVに限らず様々な生体分子の機能解明にも極めて有効です。従って、今後この新しい研究手法は多様な生体分子の働く仕組みの解明を加速するでしょう。また、装置の改良により細胞表面や細胞内で起こる動的プロセスの高解像観察も可能になるものと予想されます。更には、生体分子に限らず、洗浄、腐食、電気化学反応、触媒反応など液中の固液界面で起こる様々なナノスケールの動的プロセスの解明にも高速AFMは役立ち、ナノテクノロジーの発展にも大きく貢献するものと期待されます。



<参考図>

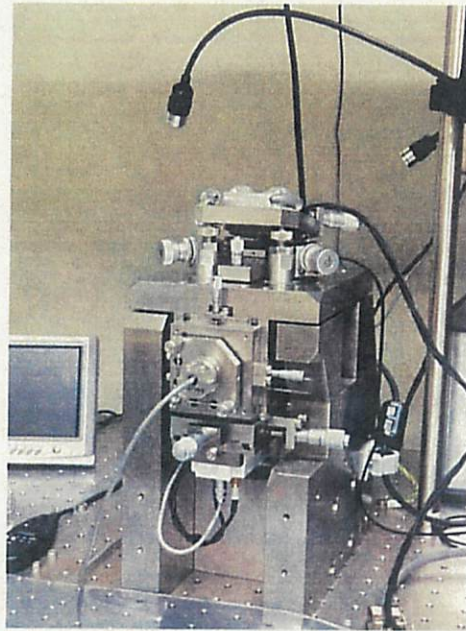


図1 開発した高速 AFM 装置の外観

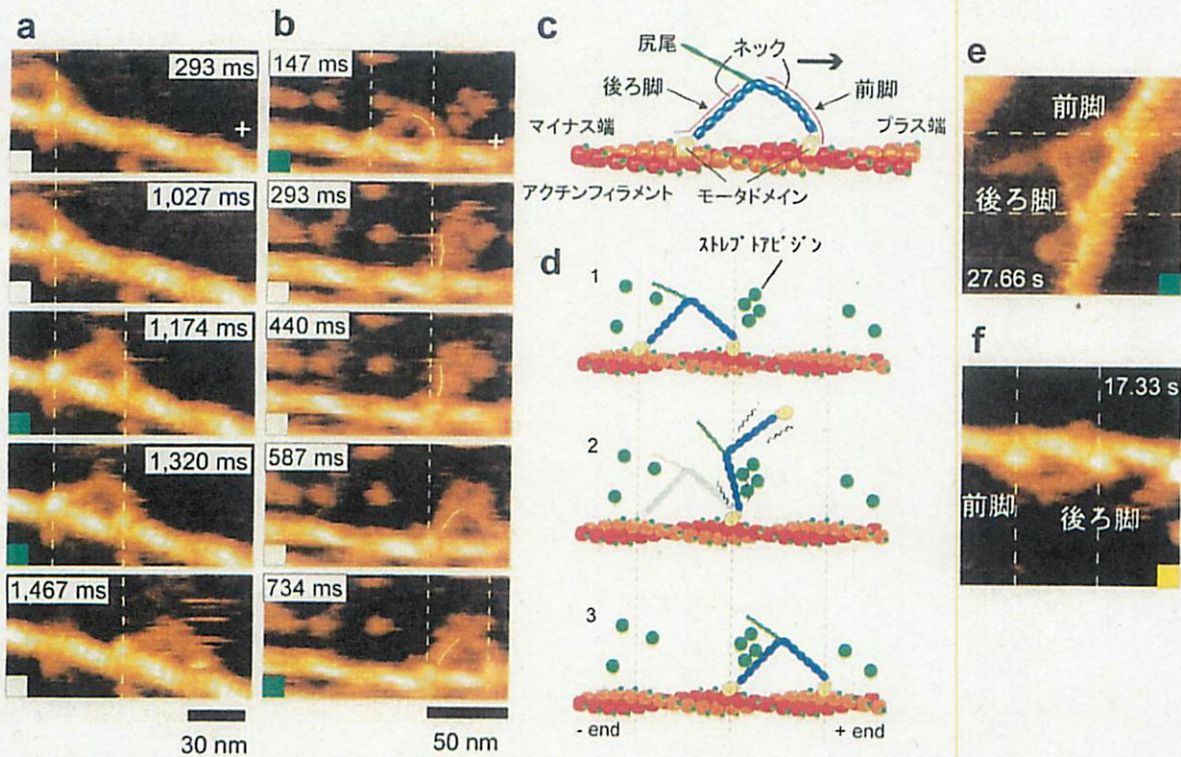


図2 アクチンフィラメントに沿って歩行運動するミオシンVを捉えた高速 AFM 像(a, b)と前脚の形態の違いを示す AFM 像(e, f)。過剰なストレプトアビジン分子を基板に撒かない場合(a)と撒いた場合(b)。撒かない場合には前進運動は速すぎてその途中が見えていないが、前脚と後ろ脚は交換している(bでは交換がはっきり見える)。(c)は2本脚でアクチンフィラメントに「ハの字」で結合したミオシンVの模式図。(d)は(b)の模式図。回転する前脚がストレプトアビジンに一時的に接触して前進運動が遅くなる結果、前進運動中の振舞いが高速 AFM で捉えられた。(e)濃い ADP 存在下での AFM 像。(f)ヌクレオチド非存在下の AFM 像。縦もしくは横の破線はモータードメインの重心位置を示す。



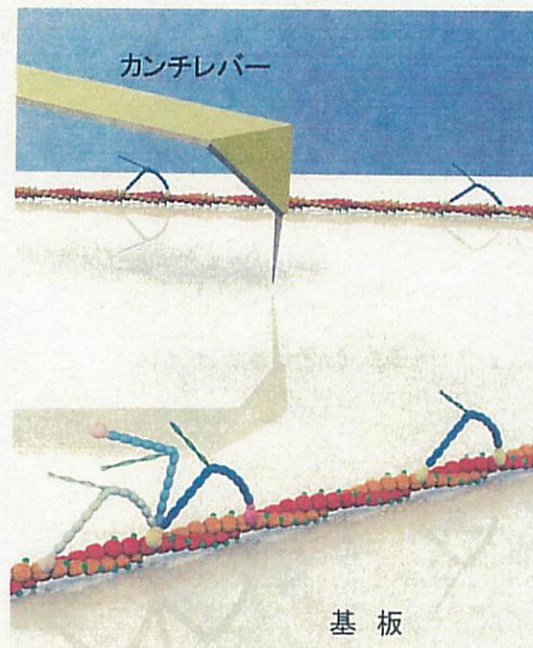


図3 カンチレバー探針で試料表面の1点1点に触りながら試料の全体像を撮るAFMの原理とミオシンVの歩行過程（左下）を示す模式図。



## <用語解説>

### 注1) アクチンフィラメント

細胞内で繊維状構造を作る細胞骨格の1つで、アクチン分子が2重螺旋で重合したもの。ミオシンと共同して細胞内で力を発生するとともに、重合・脱重合により細胞運動を起こす。

### 注2) ミオシンV

ミオシンスーパーファミリーに含まれるタンパク質のひとつ。細胞内では物質輸送を担っている。2つの等価な脚状の構造からなり、それぞれの脚はモータードメインとそれに続く長いネックドメインから成る。モータードメインにはアクチンと結合する部位とATPを分解する部位の両方がある。ATP<sup>(注5)</sup>の加水分解のエネルギーを利用して、アクチンフィラメントに沿って1分子で連続的に運動する。

### 注3) 蛍光顕微鏡

蛍光分子は特定の波長の光(励起光)を吸収し、それより長い波長の光(蛍光)を放出する。蛍光顕微鏡は、励起光を除去し蛍光のみを観察できるようにした光学顕微鏡で、真っ暗な背景の中で光る蛍光を高感度で観察できるため、1分子が発する蛍光輝点の観察が可能である。

### 注4) 原子間力顕微鏡 (AFM)

柔らかいレバーの先に付いた針の先で試料に触って試料の表面形状を観察する顕微鏡。針と試料の水平方向の相対位置を変えながら、試料表面各点の高さ情報を計測し、試料の表面形状を求める。試料の環境を選ばないため、水中に在る試料も観察できる。針と試料の相対位置を高速に変化させても振動が起らないようにし、また、針・試料間の接触力を一定に保つ制御を高速化したAFMが高速AFM。

### 注5) ATP

アデノシン3リン酸の略称。生体で用いられるエネルギーの保存および利用に関与する化合物。加水分解されるとADP(アデノシン2リン酸)とPi(無機リン酸)になり、エネルギーが放出される。

### 注6) ADP 解離の非対称性

ミオシンVの2つの脚は本来等価であり、ATPを分解する能力は同じである。後ろ脚がアクチンから解離し前方のアクチンに結合して前進するため、ATP分解反応サイクルの速さ(特に、ADP解離の速度)は前脚と後ろ脚では違う(すなわち非対称性をもつ)ことが示唆されていた。

### 注7) Foot Stomp

ミオシンVが前方に移動するときのみ後ろ脚がアクチンから解離すると信じられてきたが、今回の研究で、移動せずに、特に前脚が短時間アクチンから解離し同じアクチン(もしくは隣のアクチン)に再結合することが発見された。この短時間の解離・再結合をFoot Stompと名付けた。後方に適当な負荷がミオシンV分子にかかっているときに繰り返し力を出すことと関係していると推測される。