

金ナノ粒子を用いた生体分子モーターの高速・高精度 1 分子イメージング High-speed, high-precision single molecule imaging of biomolecular motor with gold nanoparticles

分子研¹, 総研大², 生理研³ ○安藤 潤^{1,2}, 中村 彰彦^{1,2}, Akasit Visootsat²,

山本 真由子¹, Chihong Song³, 村田 和義³, 飯野 亮太^{1,2}

IMS¹, SOKENDAI², NIPS² ○Jun Ando^{1,2}, Akihiko Nakamura^{1,2}, Akasit Visootsat², Mayuko

Yamamoto¹, Chihong Song³, Kazuyoshi Murata³, Ryota Iino^{1,2}

E-mail: ando@ims.ac.jp

金ナノ粒子は、光学顕微鏡による生体 1 分子イメージングのプロープとして用いられてきた。散乱効率がよく、退色しないことから、ナノメートルスケールの位置決定精度とミリ秒以下の時間分解能で生体分子の挙動を追跡できる。生体分子モーターの動作原理をより詳細に理解するには、位置決定精度と時間分解能のさらなる向上が必要とされてきた。

本研究では、金ナノ粒子の位置決定精度の下限値と時間分解能の検証を行った。単一の金ナノ粒子からの散乱光を検出するため、全反射暗視野顕微鏡を用いた。粒径 20-40nm の金ナノ粒子に対し、入射光強度を変えながら計測を行ったところ、位置決定精度がフォトン数の平方根に比例して向上する事を確認できた。直径 40nm の金ナノ粒子の位置決定精度の下限値は、約 0.3nm であり、検出器の飽和が下限値を決めていることを見出した。

位置決定精度を向上させるため、アキシコンレンズを用いた輪帯照明型の全反射暗視野顕微鏡を開発した。リング状の照明光によって対物レンズの光損傷を抑制し、より高いレーザー光強度で計測を行うことができる。さらに像倍率を最適化し、検出器の光信号の飽和を抑制した。その結果、40nm の金ナノ粒子を用い、時間分解能 1 ミリ秒で 1.3 オングストローム、33 マイクロ秒で 5.4 オングストロームの位置決定精度を達成した (Figure a) [1]。

開発した装置を、モータータンパク質キネシンのモータードメインの挙動の観察に応用した。2 量体を形成するキネシンの片方のモータードメインに 40nm の金ナノ粒子を結合して計測を行った。直進歩行時に、モータードメインがレールとなる微小管から離れる瞬間の挙動を、10 マイクロ秒の時間分解能で追跡することに成功した (Figure b)。

[参考文献 1] J. Ando *et al.*, *Biophys. J.*, **115**, 2413-2427 (2018).

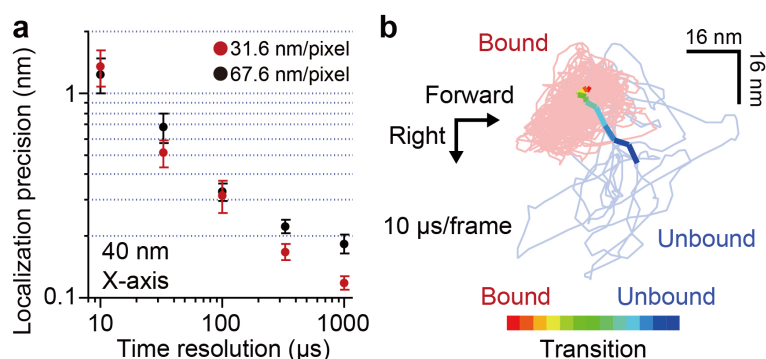


Figure (a) Time-resolution dependence of the localization precision of 40 nm gold nanoparticles (AuNPs) with annular illumination total internal reflection dark-field microscopy. **(b)** Transition from bound to unbound state of the AuNP-labeled kinesin-1 head on microtubule. The image shows a two-dimensional plot of the center coordinate of an AuNP. Rainbow line represents the transition, captured with 10 μs time resolution.