

バイオ高速 AFM の性能向上と機能付加にむけて

Improvement of scanning performance and functional extensions of high-speed AFM for biological sciences

金沢大 NanoLSI¹, JST CREST² °古寺 哲幸^{1,2}

NanoLSI, Kanazawa Univ.¹, CREST, JST², °Noriyuki Kodera^{1,2}

E-mail: nkodera@staff.kanazawa-u.ac.jp

高速原子間力顕微鏡（高速 AFM）は、水溶液中にある生体分子の形状と動きを、ナノメートルの空間分解能とサブ秒の時間分解能で観察できる顕微鏡である^[1]。近年では、様々な生体試料系に応用され、生体分子やその複合体が起こす動的な形状変化や生体分子間の相互作用などを直接観察することで、各試料系の機能メカニズムの理解を深めることに貢献してきている^[2]。

しかしながら、現在の高速 AFM の時間分解能では観察できない生命現象の諸過程はまだ多い。そこで、高速 AFM の時間分解能をさらに向上させる取り組みを近年行っている。これまで最も遅いデバイスは、Z スキャナーであったが、その共振周波数を約 0.2 MHz から約 1.2 MHz まで高速化することに成功した。これにより、AFM 探針と試料間の相互作用を一定に保つフィードバックの周波数帯域が 70 kHz 程度から 120 kHz 程度まで向上した。これにより 50 ms/frame といった高速イメージングでも、細胞骨格であるアクチン線維を長時間破壊せずに観察できるようになった^[3]。また近年、三角関数を演算することにより、搬送波の 1/4 周期で振幅を更新できる振幅計測器が報告されている^[4]。我々は、その方式をさらに改良し、振幅の二乗値を出力する計測器を開発した。1 MHz の搬送波において、搬送波の 1/7 周期程度で振幅を更新できる性能を達成している。これらにより高速 AFM の時間分解能がさらに向上してきている。

また、生体分子の外力に応じた機能変調のメカニズムを理解するために、高速 AFM にマニピュレーター機能を搭載したシステムの開発も進めている。これまでに、高速 AFM でアクチン線維を観察しながら、アクチン線維を移動させることができるようになってきている。さらに、膜輸送体の輸送活性と構造変化を同時観察できる高速 AFM システムの開発も進めている。パッチクランプ用のピペットを AFM の観察ステージとして用い、パッチクランプを行いながら、カンチレバーについた探針でピペット先端を高速 AFM 観察する仕組みである。

本発表では、高速 AFM で得られたタンパク質分子の動画を紹介しながら、それぞれの進捗状況について発表したい。

References

- [1] Ando T *et al.*, *Annu. Rev. Biophys.* **42**, 393-414 (2013)
- [2] Ando T, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **51**, 105-112 (2019)
- [3] Shimizu M *et al.*, *submitted*
- [4] Miyagi A & Scheuring S, *Rev. Sci. Instrum.* **89**, 083704 (2018)