

3次元原子間力顕微鏡を用いた 染色体のナノスケール3次元内部構造観察

Visualization of nanometer-scale three-dimensional structures of chromosomes
with three-dimensional atomic force microscopy

金沢大¹, 金大 WPI-NanoLSI², 金大学際科学実験センター³, 阪大院⁴

°(B)児島 亮平¹, 宮澤 佳甫^{1,2}, 岡野 直子², 目黒 牧子³, 堀家 慎一³, 炭竈 享司², 日笠山 拓¹,
今立 呼南⁴, 平原 佳織⁴, 福岡 剛士^{1,2}

Kanazawa Univ.¹, NanoLSI², Advanced Science Research Center Kanazawa Univ.³, Osaka Univ.⁴

°(B)Ryohei Kojima¹, Keisuke Miyazawa^{1,2}, Naoko Okano², Makiko Meguro³, Shinichi Horike³,
Takashi Sumikama², Taku Higashiyama¹, Konan Imadate⁴, Kaori Hirahara⁴, Takeshi Fukuma^{1,2}

E-mail: rkojima@stu.kanazawa-u.ac.jp

染色体は、ヒストン八量体と呼ばれるたんぱく質に DNA が巻き付いたクロマチンと呼ばれる繊維状構造が凝集することで構成され、生物の遺伝情報の発現や伝達に直接寄与する。これまでに、染色体を構成するクロマチンの3次元折り畳み構造やその起源を明らかにするために、蛍光顕微鏡や共焦点・超解像顕微鏡、電子顕微鏡、原子間力顕微鏡による観察が行われているが、現在でも染色体内部のクロマチンの3次元折り畳み構造のメカニズムには理解されていない点も多く、議論が続けられている。

このような背景の中で、我々は、染色体の3次元折り畳み構造をナノスケールかつ液中環境下で直接可視化することができる3次元原子間力顕微鏡(3D-AFM)の開発を目指している。3D-AFMは、AFM探針を固液界面で3次元的に走査し、探針が受ける相互作用力を3次元的に取得することで、固液界面の3次元構造を可視化する手法である。3D-AFMを用いたこれまでの先行研究では、結晶表面の水和構造、脂質膜や自己組織化膜の水和・揺動分子構造のサブナノスケール観察が達成されており、今後は染色体や細胞のように複雑かつ立体的な構造の3次元計測の実現が期待されている。

本研究では、染色体の3次元立体構造を観察するための3D-AFMの開発を行っている。3D-AFMを用いた先行研究では、厚み1 nm以下の水和・揺動分子構造の可視化が行われてきた。一方で、ヒトの染色体(図1a)は厚みが500 nm以上あり、染色体全体を3D-AFM計測するためには、染色体の内部まで侵入することができる細長い探針(探針長>500 nm)が必要である。そこで、本研究では、電子顕微鏡内に設置したマニピュレーターで汎用的なSi探針先端にカーボンナノチューブ(CNT)を取り付け、長さ500 nm、直径30 nmのCNT探針を作製した(図1d(ii))。汎用的な探針(図1c(i))と本研究で作製したCNT探針(図1d(i))を用いて、ヒトの染色体上で3次元力分布像を取得した(図1b)。図1c(ii)-d(ii)は、それぞれ汎用的な探針(図1c(i))およびCNT探針(図1d(i))を用いて染色体上で取得したフォースカーブである。汎用的な探針では、フォースカーブが単調に増加したが、CNT探針では、染色体表面から500 nmの深さまでのフォースカーブは振動的な挙動を示した。この結果は、細長い円柱形のCNT探針を用いると、染色体表面からCNT探針の長さ程度の深さ(500 nm)までは染色体の内部に探針を挿入することができ、少なくともその深さまでの空間領域の染色体内部構造を反映した力分布像が取得された可能性が高いことを示している。これらの実験結果を基に、現在、3D-AFMを用いて染色体上で取得される3次元力分布像の分解能の向上や、3次元画像処理によるデータ解析に取り組んでいる。今後、本手法の開発により、染色体内部のクロマチンの密度分布や3次元構造をナノスケールで計測し、クロマチンの3次元折り畳み構造やその起源の解明に寄与することが期待される。

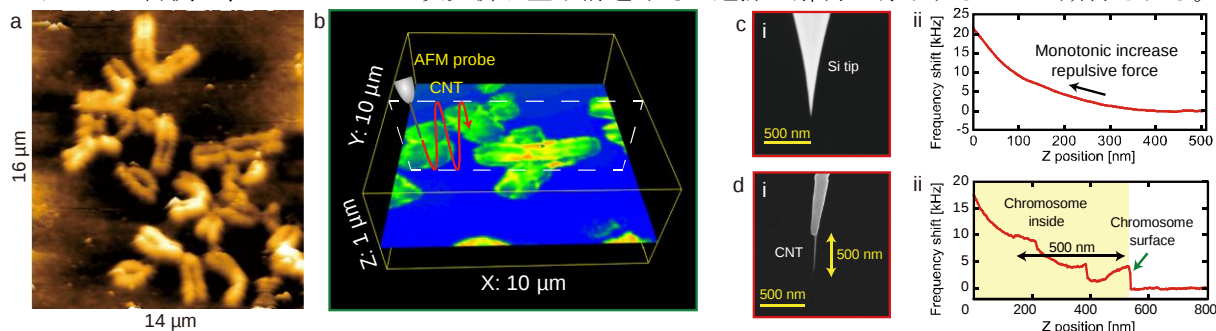


Fig. 1: (a) 2D- and (b) 3D-AFM images of human chromosome. (c-d) (i) SEM images of tips and (ii) force curves obtained on human chromosome measured by (c) conventional tip and (d) home-made CNT tip.