

# 生体単一分子のダイナミクスを粘弾性を通して見る

影島 賢巳

大阪大学大学院工学研究科応用物理学専攻

## 1. 研究のねらい

生体分子に代表されるソフトマターの物性は、一般にその粘弾性によって特徴付けられる。粘弾性とは、力学系が呈する保存的（弾性的）応答と非保存的（粘性的）応答を表わし、ダイナミクスの時間スケールに直結する複素的な物理量である。代表的な生体分子であるタンパク質は、その複雑に階層化された構造に応じて種々の時間スケールを持つダイナミクスを呈することが知られている。また、これを1本の高分子鎖として見ても、その性質を特徴付ける時間スケールとしての緩和時間が種々に分布しているはずである。

本研究の目的は、感度に優れた力学応答計測手段である原子間力顕微鏡 (AFM) を応用して生体分子のダイナミクスの時間スケールを一分子レベルで計測する手法の確立を目指すものである。本研究は、構造の知られたモデル的タンパク質分子を、従来型の AFM 装置を用いて低周波で粘弾性計測し、アイデアの妥当性やデータ解釈の方法を確立することと、1MHz までの広帯域で、粘弾性の周波数依存を計測できる AFM を開発することの2つの大きな目的で行われた。

## 2. 研究成果

市販の液中用 AFM 装置に電磁石を付加して、磁気粒子を取り付けたカンチレバーに比較的低周波である 600 Hz の変調をかけながら、筋肉中の巨大タンパク質であるコネクチン分子の伸張に伴う力及び粘弾性プロファイルを計測した。この分子は、 $\beta$  シートがバレル状に構造化したドメインが直列に多数連なった構造を持つ。1つのドメインが張力により転移する様子の力および弾性プロファイルを図1に示す。張力を増していくと以前に崩壊したドメインがランダムコイル的に応答しエントロピー弾性を示すが、張力が増加してあるレベルに達するとドメイン内の特定の水素結合だけが断裂した中間状態に転移し (図 1b-c)、さらに高い臨界張力でドメインは瞬時に崩壊する (図 1d-e)。データを見ると、力のプロファイルには中間体への転位による変曲点が現われているが、分子弾性を伸張距離で積分したプロファイルにはこれが見られない。これは、600 Hz の変調周波数では中間体への転位が不可逆的・非平衡な応答であるために生じていると解釈される。しかし、同程度の周波数でも変調振幅を増加させた場合には、中間体への転移にあわせて分子弾性にピークが現われているように見えるデータもある。力学的な変調が相転移現象自体に影響している可能性もあり、解釈には今後の検討を要する。

通常、ドメインの完全な崩壊は瞬時に起こるが、1つのデータ中の1つのドメインについてだけ、50 ms程の長い崩壊が観測され、粘性抵抗係数も特異的な挙動を示した。その原因は不明であるが、この際の粘弾性データから特徴的な緩和時間を算出すると  $10^{-4}$  ms となり、高分子鎖が溶媒の粘性抵抗から直接受ける摩擦に起因する緩和時間より2桁程度大きな値になる。これは、溶媒摩擦以外の内部摩擦メカニズムの存在を示唆する結果であり、1分子粘弾性計測が高分子物理の分野で新しい知見を与えることを示唆している。

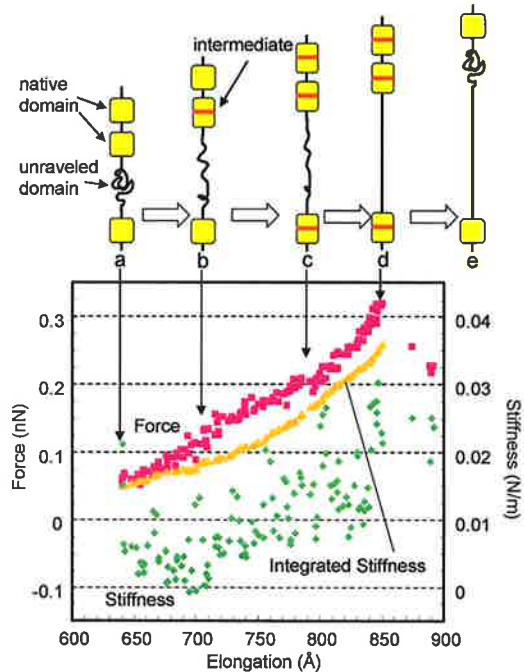


図1 コネクチン分子1ドメインの伸張中の力、分子弾性、およびその積分のプロファイル

以上の計測で示された可能性をさらに発展させるため、周波数依存粘弾性計測を目指して磁気変調機構を広帯域化させた新たなAFM装置を製作した。装置の写真を図2に示す。磁気変調の帯域を1 MHzまで広げることが目標とし、検出系の帯域はこの変調によるカンチレバーの動作を余裕をもって検出できるよう10 MHzとした。変位検出の光学系は、共振周波数の高い小型のカンチレバーに適合するよう、対物レンズを用いて2ミクロン以下のレーザービーム直径を実現した。一般に電磁石の高周波化は困難なので、ここでは、駆動回路への制約を可能な限り減らし、広帯域化に有利にするために、小さなインダクタンスの小型電磁石で磁場を集中させて強い磁場勾配を生み出す方針をとった。高周波まで透磁率が一定なフェライト材コアを用いて、インダクタンス4.5  $\mu\text{H}$ 、直径1 mmの電磁石を製作した。この電磁石を駆動する際に、そのインダクタンス、並列容量、ジュール熱などによるインピーダンスの周波数依存性や時間変動に影響されず一定振幅の交流磁場を発生させられるよう、広帯域の電圧-電流変換回路を開発した。その結果電磁石に流す1A<sub>p-p</sub>以上の振幅の電流の振幅および位相の変動量を1MHzの帯域でそれぞれ1.3dB、12°以内に抑えることが可能になった。

この電磁石系を用いて、磁気薄膜を蒸着した市販の0.1 N/mのAFMカンチレバーを、大気中で励振して計測した振幅および位相の周波数依存性を図3に示す。帯域内にある1次から3次の3つの共振モードが励振できているのがわかる。位相特性も、共振を境に180°変化する理想的な特性が得られている。

これら複数の共振モードを利用することによって、帯域内の複数の周波数で粘弾性データを得ることが可能である。現在は、力学的に相転移を起こすことが知られており、単純な周期的構造を持つ、デキストランなどの高分子鎖を用いて周波数依存粘弾性計測のデモンストレーションを行う予定である。また、液中で1 MHz近い共振周波数を持つ特殊微小カンチレバーを用いての連続スペクトルでの計測に向けて、磁気力振幅の向上も目指している。

### 3. 主な発表

#### 論文

- ・ M. Kageshima, Y. Nishihara, Y. Hirata, T. Inoue, Y. Naitoh, and Y. Sugawara, Viscoelasticity and Dynamics of Single Biopolymer Chain Measured with Magnetically Modulated Atomic Force Microscopy, submitted to Proceedings of The 5<sup>th</sup> International Workshop on Complex Systems, 2007.

#### 招待講演

- ・ 影島賢巳「生体単一分子の力学的プロファイル計測」、日本顕微鏡学会第61回学術講演会シンポジウム「原子間力顕微鏡の新展開」(2005年6月)
- ・ 影島賢巳「生体単一分子の力学プロファイル計測」、日本分析化学会第55年会シンポジウム「先端計測開発による分析の新潮流」(2006年9月)

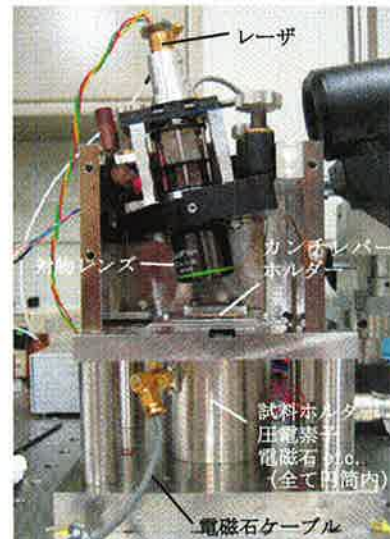


図2 製作した広帯域磁気変調AFM

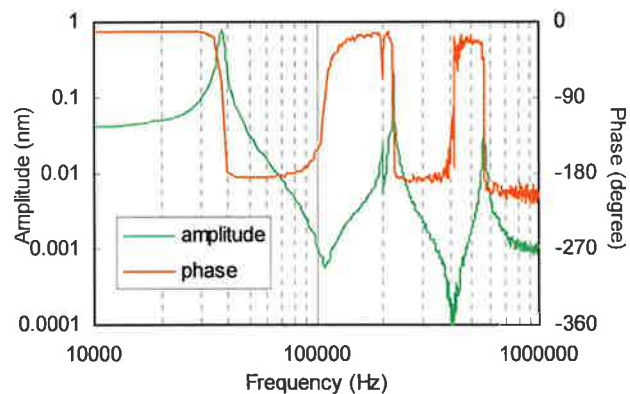


図3 磁気薄膜をコートした市販0.1N/mカンチレバーの大気中で計測した磁気励振特性