



生物の解析法 - 力学編 -

猪飼研究室 ~ 生体機構学科



猪飼 篤 教授

極端に言えば、生物はタンパク質など生体高分子の集まりである。さまざまに組み合わせられたタンパク質が、一つの細胞をつくり、器官をつくり、そして生物を構成している。そのため、タンパク質を知ることは、生物を研究する上で重要な一つの手段である。

長年にわたる研究の結果、タンパク質の持っているさまざまな性質が明らかになってきている。しかし、未知なる部分もまだまだ多い。

そこでここ猪飼研では、生物への新たなアプローチの手段として、「力学的」な見方を開発、実践しようとしている。



タンパク質と力学の強引な関係

猪飼研で行われている研究は、「力学的な手法で生物を知る」という一言に集約される。タンパク質一つから細胞レベルのものまで、さまざまな生化学の研究へ力学の手法を取り入れようとしているのだ。

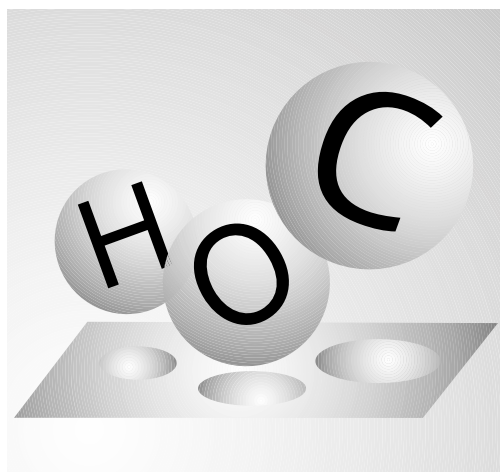
しかし、力学と生化学、お互い共通点が多いとは言いがたい。そこでまず、猪飼研の具体的な研究の説明に入る前に、これらの接点について見てみよう。それには今までの生化学について知る必要がある。

生化学という分野が生まれて、まず解明されていったのが、タンパク質各々の構造であった。そして、それらの化学的な性質や反応、構造の変化などが解明されていった。だが、それらはほとんどの場合、タンパク質ごとの経験則としてしか分かっていなかった。

しかし、実際には性質を示すにしろ、構造が変化するにしろ、その反応途中の状態が必ず存在しているはずである。そこで、その過程が分かれば、構造からその性質や変化が予想できるのではないかと考えられた。これは、生化学における最も基

礎的な問題で、実に半世紀近く研究されているトピックなのである。

ところが構造があまりにも早く崩壊・生成してしまうため、今までに人間が持ち得た「眼」では途中の状態をとらえることは容易ではなかった。もし、その途中の状態を観察したければ、何十億という同型の分子を集め、無作為に抽出して構造を測定し、その中で偶然にも変化の途中であった



分子の情報を探し出すしかない。このような実に効率の悪い方法によってしか観察できなかったのである。

そこで、その問題を解決するために、力学的手法を取り入れようと考えられた。力で強引にタンパク質を変形させ構造を変えて反応途中の状態を作り出そうというのである。そうすれば、非常に不安定な、一瞬の間にしか存在し得ない状態を長

時間保てるのでは、と考えたのだ。

猪飼研では、この考え方に基づく実験・観察とその応用研究が行われている。しかし、研究対象はタンパク質という非常に小さな試料なので、力を加えようというのがまず容易ではない。まずはどこにどうやって「力」を加えるか、それが研究の最初のステップとなる。



触れて"見"る顕微鏡

対象の「形」を知る。これは、タンパク質に限らず、何らかの対象を研究する上で大事なことのひとつである。特に今回は、試料に「力」を加えたいというのだから、どこに力を加えたか、ということも重要なデータのひとつとなる。

タンパク質程度の大きさの物を知るためには、一般的に「X線結晶解析法」と呼ばれる方法が利用されている。この方法を使えば、対象の形は正確に知ることが可能である。しかし、形を知るだけでは、力を加えた場所の特定まではできない。力を加えるときに、対象がいつも同じ位置や向きをしているとは限らないからである。

そこで猪飼研では「原子間力顕微鏡」と呼ばれる顕微鏡を利用して問題を解決している。この顕微鏡を利用すれば、対象の位置や向きを特定でき、さらに力を加えることも可能なのだ。なぜそのようなことが可能なのか。この顕微鏡の原理から考えてみよう。

原子間力顕微鏡の原理は、広く用いられている光学顕微鏡や電子顕微鏡とは大きく異なっている。通常、顕微鏡は、光や電磁波などを利用し、



原子間力顕微鏡

構造をいわば遠くから観察している。ところが、原子間力顕微鏡はそのような仲立ちを一切利用しない。直にさわった感触を利用して物を見るからである。

図1を見て欲しい。これが顕微鏡の「眼」となるシリコン製の針の構造である。非常に単純であることが分かるだろう。この先端の探針は長さが約 $3 \times 10^{-6} \text{m}$ 、先端の曲率半径が $10 \sim 15 \times 10^{-9} \text{m}$ とい

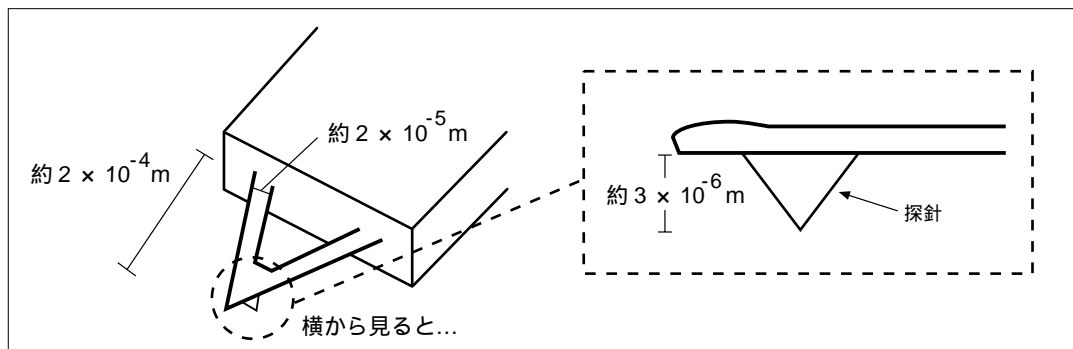


図1 原子間力顕微鏡の針の構造

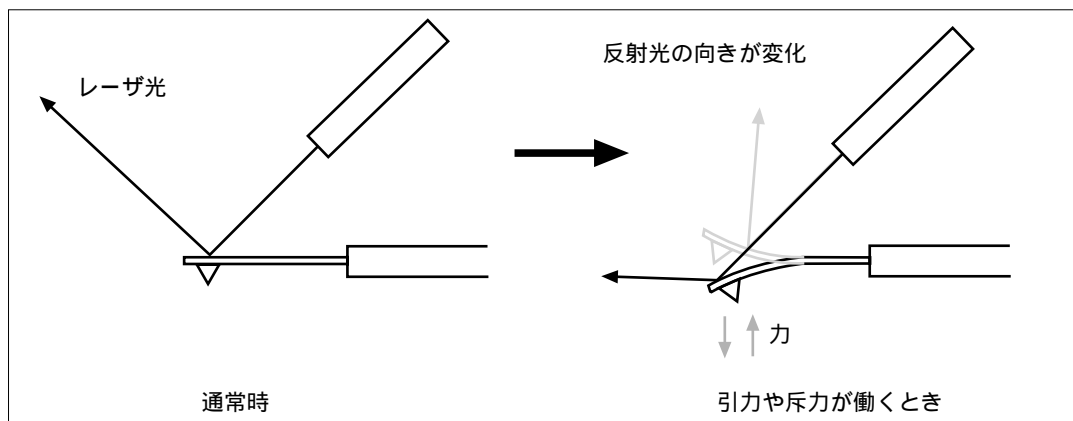


図2 針にかかる力と反射光の変化

う非常に微細な構造を持っている。ここで出てきた 10^{-9}m というオーダーは、分子の直径に匹敵するほど小さなものである。

試料を観察するときは、この非常に鋭利な針をそっと対象に近づけていく。すると、針と原子の間に働くさまざまな相互作用で、数ナニュートンという微小な引力や斥力が針と試料の間に生じる。力が生じると、針がついている三角の形のパネにひずみが生じる。このひずみをレーザー光の反射によって検出する(図2)。こうして、針と試料のある一点との相互作用を計測することができるのである。

この作業を、試料表面全体をくまなくなぞるように繰り返してデータを得る。そうして得られたデータから、試料の表面の形状が分かるのである。十円玉の上に紙をのせ、それを鉛筆でこすって模様を写し取る、ということをしたことがあるだろう。原理としては、これと同様である。

この顕微鏡には他に見られない長所が多い。一

つは、試料表面の凹凸が非常に細かく測定できるということ。そして、原子レベルに達する高い分解能を持っているということ。さらに、特殊な処理や高真空などが必要ないので、タンパク質など非常に変質しやすい材料でも観察ができるということである。

さて、これまでは針を単に試料に近づけるだけであった。ここでさらに、力を入れて針を試料に無理やり押しつけてしまうことを考えてみよう。こうすれば、試料に対して「力」を加えたことになる。そうすれば、試料が壊れたり、横にずれたり、さらには弾力で針が押し戻されたりする、という結果が期待できる。

さらに、接着剤のようなもので試料を固定すれば、試料を引っ張ったり、伸ばしたり、さらに引きちぎったりもできるだろう。

しかし、それにもいろいろな困難が存在する。実際に顕微鏡でどのように「力」を加えているのか、それを次に見ていこう。



押してみよう、引っ張ってみよう

ここまでで、原子間顕微鏡による力学的な観察方法の原理を述べた。これらの操作は、試料が大きく重いのなら問題なく行うことができる。なぜなら、ちょっとやさっとの力では試料全体が動くことはないからだ。しかし、とても小さな試料では、単に針を近づけるだけでは針に弾かれどこかにいってしまう。そのため、試料はしっかりと固定する必要がでてくる。とはいえ、顕微鏡の針

も土台も精密機械の一部なのだから、もともとこれ以上ないほどの微細加工がされている。ここにさらに細かな仕掛けを施すわけにもいかない。

そこで、観察するタンパク質の方に工夫をすることにした。土台と針に十分強い力でくっつくように、タンパク質に接着剤の役割を果たす物をつけたのである。当然、対象が分子なのだから一般的な接着剤を利用することは不可能である。そこ

で、分子に-SH基を組み込むことで、その役割を果たさせようと考えた。-SH基は非常に反応性が高く、土台にも針にも丈夫な架橋構造を作る（図3）。この構造はとても丈夫で、分子が壊れるほどの力を加えても壊れることはない。こうすることで、対象となる分子を見失うことなく観察できるのだ。

猪飼研究室では、このような方法を利用したタンパク質の力学的研究を行っている。まずは、内部に架橋構造を持っていない、一本のひものような構造のタンパク質が研究の対象となっている。

最初に構造から性質が予想しやすいという観点から、カルモジュリンというタンパク質が選ばれた。この分子は全体の50%以上がらせん構造をしていて、まるでバネのような形なのである。そこで、実際にバネのような力学的な性質を持つのではないか、と考えたのだ。

結果は、予想とももの見事に一致した。伸ばした距離に応じ、引っ張る力がバネそっくりに変化していったのである。実際、この結果から、超マイクロなバネとしてこの分子が利用できるのではないかと考えられた位である。

ほかに、炭酸デヒドラターゼという分子が選ばれた。これは、引っ張ると結び目ができるようなひも構造を持つ。そこで、実際に結び目ができるかどうかを調べてみようと考えられたのである。

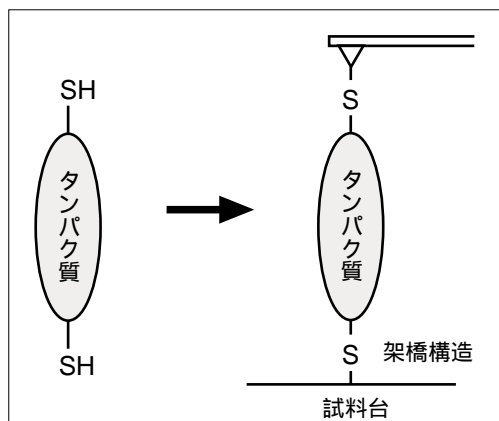


図3 タンパク質の固定

この分子の両端をつかんで引っ張っていく。すると、2ナノニュートン程度の力に対しては分子はその形を保っているが、さらに力を加えると突然構造がパラッと壊れることが分かった（図4）。

さらに、分子の両端を引っ張らずに途中から引っ張ることも考えられた。ひもをほどいてみようというのである。その結果、両端を引っ張ったときより分子の全長が長く観察された。以上より、実際にひもの結び目のような性質があることが確認されたのである。

このように、タンパク質が持つさまざまな力学的性質が解明されようとしている。

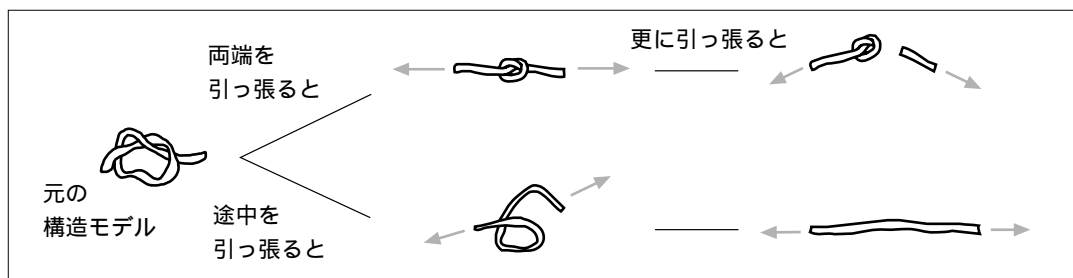


図4 炭酸デヒドラターゼの変化の過程



顕微鏡を釣りざおのように

さらに猪飼研では、タンパク質にとどまらず、この力学的手法を応用した研究にも取り掛かっている。

今度は、細胞について考えてみよう。細胞はそ

の存在する場所によってさまざまな働きを持っている。その働きはなにか外部の刺激があってから初めて行われる。そのため、細胞表面にはその刺激を感じ取るスイッチの一つとして「受容体」と

いうものが存在している。この受容体が何らかの物質と反応して、その情報が細胞内部に伝わることにより、細胞が何かしらの働きをするのである。

この受容体は、細胞表面にさまざまな種類と数があることがよく知られている。だが一体、表面のどこにあるのか、そしていくつあるのかということまではほとんど知られていない。それを知るために、力学的手法を応用することが考えられた。

先ほど述べたように、受容体がその機能を果たす時には、何らかの物質との反応が起こっている。そこで、その各受容体に対応する物質を原子間力顕微鏡の針に取り付け、細胞表面に下ろしてみる。すると、受容体があるところでは、まるで受容体が針に食いついたかのように強い力で針を引っ張ることが観察されるのである。

この方法により細胞表面をくまなく調べてみることで、受容体の位置を確実に知ることができるようになった。正確な「受容体マッピング」が可能となったわけである(図5)。具体例としては「フェロモン受容体のマッピング」などに応用することが検討されている。

さらに、この「釣り」の手法の応用は、DNAの解析に及ぶ。

現在までに、染色体上のDNA塩基配列の決定はさまざまな手法が開発されてきた。しかし、それらの手法では染色体にある一部分のDNAを調べるのが精一杯である。そのため染色体を調べるときには、その中のDNAを少しずつ採取しながら進めていくという手法がとられている。

しかし、その採取の仕方には大きな問題があった。

猪飼先生は、この力学的観察方法の応用範囲をさらに広めようと、さまざまな構想を練っているそうである。例として挙げられたものとしても、神経細胞の情報伝達時の接続の力や、ガン細胞が転移する際の接着力の変化、さらには血管内壁と白血球の接着力についてなど枚挙にいとまがない。DNAなどは採取だけでなく、逆に新しい遺伝子を力学的に組み込むこともできるようにしたいという。

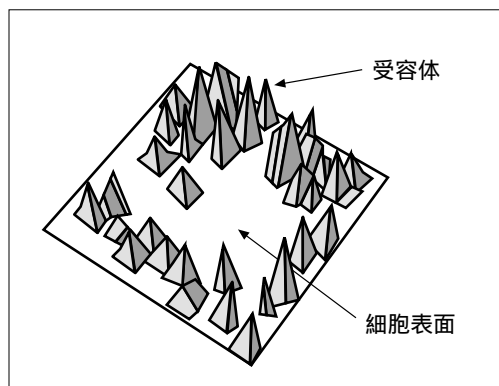


図5 受容体マッピングの例

それは、採取したDNAが、染色体のどこにあるのかひどく曖昧にしか分からなかったからである。せいぜい、上半分のどこか、という程度の特定しかできなかったのだ。

ところが、原子間力顕微鏡を使った採取ならばその弱点を簡単に回避できる。原子間力顕微鏡の用途はもともと顕微鏡なのだから、位置の特定は簡単にできるからだ。さらに、そのなかでも高い分解能を持っているため、非常に高い精度での位置の特定が可能なのである。

実際に採取するときは、針にプラス、染色体にマイナスの弱い電荷が生じる状態で行う。そして、採取したいDNAがある場所に針を移動し、静電気力によって少量のDNAを吸い付けて採取するのだ。

このように、原子間力顕微鏡による力学的な観察方法は、生命の未知なる部分を解き明かす方法としてさまざまな応用が行われているのである。

さらに、顕微鏡自体の改良も考えられている一方で、原子間力顕微鏡にさらに光学顕微鏡の能力を兼ね備えたような「見ながら、触れることができる」顕微鏡も近々作りたいたいと考えられているそうである。

最後になりましたが、基本的なことから根気強く説明して下さった猪飼先生に心から感謝したいと思います。ありがとうございました。

(三宅 隆悟)