

細胞の動的・高次構造体
2020 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書

梅田 健一

金沢大学・ナノ生命科学研究所
特任助教

高速 AFM を用いた SMC 複合体の力学機構の解明

§ 1. 研究成果の概要

コヒーシンを始めとする染色体維持構造タンパク質 (SMC) は、染色体の形成過程において重要な役目を担うが、その分子レベルの原理に関して不明な点が多い。そのため、高速 AFM を用いて、サブ分子レベルでの現象を可視化し、原理解明を行うことを目的として研究を行っている。先行研究により、コヒーシンは生体内において高濃度条件下に存在するが、こうした高濃度溶液中において、分子と DNA が多価結合することで、相分離を起こし液滴を形成することが報告されている。そのため、実際に高速 AFM を用いて同様の条件で計測を行ったところ、ローカルに分子と DNA が結合した凝集構造を可視化することができた。こうした凝集構造内でのダイナミクスを可視化する必要があるが、原子レベルで平坦なマイカ基板を用いた測定では、DNA と基板の間に隙間がないため、分子がトポロジカル結合する様子を可視化できない問題があった。そのため、表面ラフネスや表面電荷を調節可能な脂質膜試料上に分子を吸着させて実験を行った。その結果、コヒーシンをトポロジカル結合した DNA した観察を行い、分子が DNA 上を一次元拡散する様子を可視化することができた。解析の結果、分子は DNA 上の AT 配列の集まった領域において滞在時間が長くなることが分かった。これは蛍光顕微鏡においても同様の報告がなされているが、100 bp 以下の分解能において実証したのは本研究が初めてである。また、SMC5/6 はコヒーシンよりも凝集性の高い性質をもつため、比較実験を行ったところ、コヒーシンとは異なり、二本の DNA を繋ぎ止めるような分子構造が観察された。また、一次元拡散するだけでなく、少し離れた位置にある DNA にもホッピング移動できることが分かった。そのほか、現状の高速 AFM では可視化できないほど高速な拡散現象を可視化できるようにするために、新型の振幅計測器の開発を行い、論文を出版した。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Kenichi Umeda, Kei Kobayashi, and Hirofumi Yamada: “Nanomechanics of self-assembled surfactants revealed by frequency-modulation atomic force microscopy”, *Nanoscale*, **14**, 4626-4634 (2022).
- 2) Masahiro Shimizu, Chihiro Okamoto, Kenichi Umeda, Shinji Watanabe, Toshio Ando, and Noriyuki Kodera: “An ultrafast piezoelectric Z-scanner with a resonance frequency above 1.1 MHz for high-speed atomic force microscopy”, *Review of Scientific Instruments*, **93**, 013701-1-10 (2022).
- 3) Leonardo Puppulin, Daiki Kanayama, Naohiro Terasaka, Katsuya Sakai, Noriyuki Kodera, Kenichi Umeda, Ayumi Sumino, Arin Marchesi, Wei Weilin, Hideo Tanaka, Takeshi Fukuma, Hiroaki Suga, Kunio Matsumoto, and Mikihiro Shibata: “Macrocyclic peptide-conjugated tip for fast and selective molecular recognition imaging by high-speed atomic force microscopy”, *ACS Applied Materials & Interfaces*, **13**, 54817-54829 (2021).
- 4) Kenichi Umeda, Chihiro Okamoto, Masahiro Shimizu, Shinji Watanabe, Toshio Ando, and Noriyuki Kodera: “Architecture of zero-latency ultrafast amplitude detector for high-speed atomic force microscopy”, *Applied Physics Letters*, **119**, 181602-1-5 (2021).

- 5) Arin Marchesi, Kenichi Umeda, Takumi Komekawa, Takeru Matsubara, Holger Flechsig, Toshio Ando, Shinji Watanabe, Noriyuki Kodera, and Clemens M. Franz: “An ultra-wide scanner for large-area high-speed atomic force microscopy with megapixel resolution”, *Scientific Reports*, **11**, 13003 (2021).