

High-speed atomic force microscopy visualization shows dynamic molecular processes in photo-activated bacteriorhodopsin

Mikihiro Shibata, Hayato Yamashita, Takayuki Uchihashi, Hideki Kandori & Toshio Ando

Nature Nanotechnology, 2010, **5**, 208-212

柴田幹大¹、山下隼人¹、内橋貴之^{1,2}、神取秀樹³、安藤敏夫^{1,2}

(¹金沢大学・理工研究域数物科学系、²JST・CREST、³名古屋工業大学・大学院工学研究科)

タンパク質が機能を発現する際、その構造はダイナミックに変化する。それ故に、タンパク質のダイナミックな振る舞いを直接可視化することは、その機能メカニズムを理解する有力な手掛かりになるに違いない。原子間力顕微鏡 (AFM) は溶液中でタンパク質の構造をナノメートルサイズの分解能で直接観察することができる数少ない手法の一つである。ところが、通常の AFM は 1 枚の画像を取得するのに数分の時間を必要とするが、我々のグループが開発した高速 AFM は走査性能が高く、機能している生体分子そのものの動的変化をミリ秒の時間で撮影することを可能にしている [1, 2]。

高度好塩菌の細胞膜に存在するバクテリオロドプシン (bR) は、光を吸収し、プロトン細胞質から細胞外へとポンプする。これまでに様々な手法によって光励起に伴う構造変化が報告されているが、その構造変化をリアルタイム、かつリアル

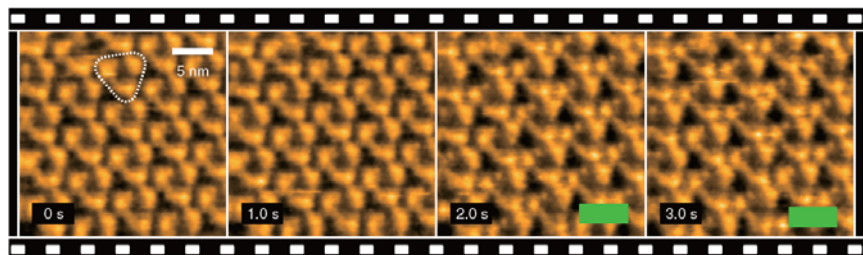


図1：バクテリオロドプシンの光刺激（バーで示す）による構造変化を捉えた高速 AFM 像。

参考動画：http://www.s.kanazawa-u.ac.jp/phys/biophys/bR_movies.htm

スペースで可視化した例はない。このような状況のもと、我々は高速 AFM を用い、光励起に伴う bR の直接観察に初めて成功した。撮影された AFM movie (1 frame/秒) には、bR 1 分子が光に反応して、その細胞質表面を変化する様子が明瞭に観察されており、観察された構造変化は光により何度でも繰り返された。また、基底状態に戻る速さに pH 依存性があることから、可視化された構造変化は bR のプロトンポンプ機能と密接に関係すると結論できる。さらに、個々の bR 分子の振る舞いを詳細に解析した結果、活性化状態で近接する bR-bR 間には、基底状態へ戻る速さに正、負の協同性を示すことが明らかとなった。このような協同性は、高速 AFM による直接観察によって初めて発見された事例である。

[1] Ando, T., Kodera, N., Takai, E., Maruyama, D., Saito, K., Toda, A. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 12468.

[2] Yamashita, H., Voitchovsky, K., Uchihashi, T., Contera, S. A., Ryan, J. F., Ando, T. (2009) *J. Struct. Biol.* 167, 153.