

## 液中 FM-AFM によるバクテリオロドプシンの表面構造・物性計測 Measurement of surface structure and physical properties of bacteriorhodopsin using liquid FM-AFM

京大工<sup>1</sup>, 産総研<sup>2</sup> ◯木村 一世<sup>1</sup>, 木南 裕陽<sup>1</sup>, 小林 圭<sup>1</sup>, 平田 芳樹<sup>2</sup>, 山田 啓文<sup>1</sup>

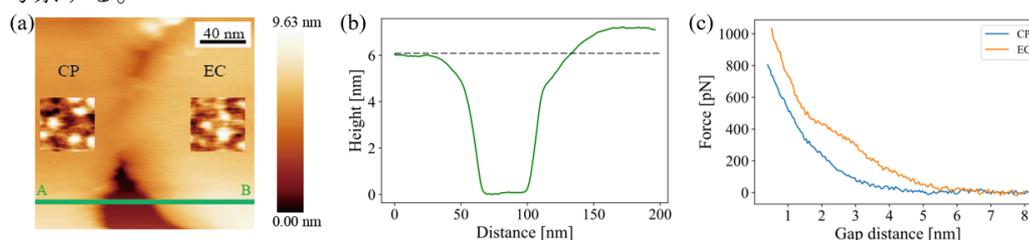
Dept. of Electronic Sci. & Eng., Kyoto Univ.<sup>1</sup>, AIST<sup>2</sup>

◯Issei Kimura<sup>1</sup>, Hiroaki Kominami<sup>1</sup>, Kei Kobayashi<sup>1</sup>, Yoshiki Hirata<sup>2</sup>, Hirofumi Yamada<sup>1</sup>

E-mail: issei.kimura@piezo.kuee.kyoto-u.ac.jp

バクテリオロドプシン(bacteriorhodopsin: bR) は膜貫通タンパク質の一種であり、光駆動プロトンポンプとして広く知られている。bR は細胞内 (Cytoplasmic: CP) 側と細胞外 (Extracellular: EC) 側で異なる構造を有しており、bR 分子の機能評価に向けては、膜の両側を分子レベルで比較観察することが必須となる。これまでも、原子間力顕微鏡 (AFM) による bR の構造評価や機能計測は精力的に進められ、高分解能観察を始めとして、変異 bR 分子を用いた光応答計測などが報告されている[1]。一方、われわれは、周波数変調 AFM (FM-AFM)を用いたフォースマッピング法により生体分子の表面電荷密度計測[2]や局所粘弾性計測に成功している。本研究では、FM-AFM を用いてフォースカーブを取得することにより、bR (紫膜) の CP 面および EC 面の表面構造・物性の比較計測を行ったので、その結果について報告する。

本研究では、高度好塩菌の紫膜を試料として用いた。へき開した mica 基板の上に 300 mM KCl, 50 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM リン酸緩衝液 (pH7.5) の混合溶液および紫膜の懸濁液を 10  $\mu$ L 滴下し、10 分間静置した。その後、上記の混合溶液を用いてリンスを行った。カンチレバーは OMCL-AC-240TSA-C3E を使い、2 次共振(140 kHz, 1 nm p-p)で振動させ、FM-AFM 観察を行った。フォースカーブ計測時には振幅を 0.2 nm p-p に変更し測定を行った。Fig. 1(a)に紫膜の表面形状像 (左側が CP 面、右側が EC 面) を、Fig. 1(b) に A—B 間に沿った断面プロファイルを示す。Fig. 1(a) インセットはそれぞれの面における bR 三量体である。Fig. 1(b) より EC 面の高さが CP 面に対し約 1 nm 高いことがわかる。さらに、Fig. 1(c) に CP 面および EC 面上において、平均たわみから取得したフォースカーブを示す。Fig. 1(c)を見ると、EC 面の方が CP 面に対してより遠方から斥力を受けていることが確認できる。本研究では、得られたフォースカーブから CP 面と EC 面の違いについて考察する。



**Fig. 1:** (a) Two patches of purple membrane exhibiting CP and EC sides. The bR trimer on each surface is shown in the inset. (b) Cross-sectional profile along the A-B line in (a). (c) Force curves on the CP and EC sides.

[1] M. Shibata et al. *Nat. Nanotech.* **5**, 208 (2010). [2] K. Umeda et al. *Nanotechnology* **26**, 285103