

周波数変調原子間力顕微鏡を用いた フォースマッピングによる バクテリオロドプシンの表面物性計測

Surface Property Measurements of Bacteriorhodopsin Protein Molecules
by Force Mapping using Frequency-Modulation Atomic Force Microscopy

京大工¹, 産総研², 〇深澤 直人¹, 木南 裕陽¹, 小林 圭¹, 平田 芳樹², 山田 啓文¹

Kyoto Univ.¹, AIST², 〇N. Fukazawa¹, H. Kominami¹, K. Kobayashi¹, Y. Hirata², H. Yamada¹

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

近年、周波数変調原子間力顕微鏡(FM-AFM)の性能の向上により、液中環境下においても高分解能観察が可能となってきた。さらに、走査領域の各点においてフォースカーブを取得するフォースマッピング法により固液界面の水和構造計測や表面電荷密度[1]等の表面物性計測が可能となってきた。今回、膜タンパク質の一種であるバクテリオロドプシン(bacteriorhodopsin: bR)をマイカ基板に吸着させた試料を対象とし、FM-AFMを用いたフォースマッピングにより力学物性や表面電荷密度等の表面物性計測を行ったのでその結果について報告する。

bR分子は膜貫通タンパク質であり、紫膜中では3量体の2次元結晶構造を形成している(格子定数: 約6.2 nm)。Fig. 1(a)およびFig. 1(b)は紫膜の cytoplasmic (CP) 面、extracellular (EC) 面で得られた bR の分子分解能 FM-AFM 像である。また、Fig. 1 (c)に 300 mM KCl, 50 mM MgCl₂, 10 mM PB Buffer (pH7.5)の混合溶液中で観察したマイカ基板上的紫膜の表面形状像(左側が CP 面、右側が EC 面)を、Fig. 1(d)に A-B 間における断面プロファイルを示す。後者より EC 面の方が高さが CP 面に対して約 2 nm 高いことがわかる。この溶液条件下では観察された 20 膜中 4 膜が EC 面を上にして吸着していたが、MgCl₂を含まない溶液条件下では観察された膜はほぼ CP 面であり、EC 面は観察されなかった。これは膜の基板吸着に Mg²⁺イオンが強く影響することを示唆している。Fig. 2(a)に CP 面で得られた 2 次元周波数シフトマップを示す。Fig. 2(b)は bR 分子直上およびその周辺(脂質)上で得られた周波数シフトカーブを示す。これらから、両者の表面電荷密度が僅かに異なることが示唆される。

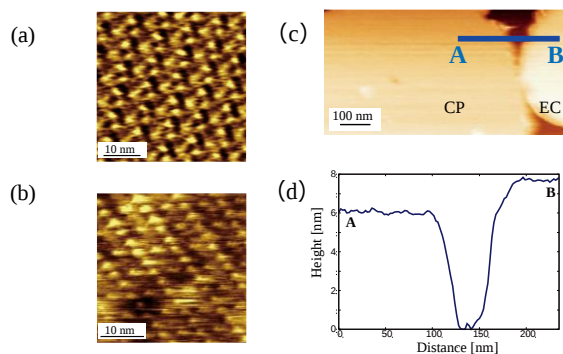


Fig. 1: Molecular-scale images of purple membrane (PM) on CP side (a) and EC side (b). (c) shows two patches of PM exhibiting CP and EC sides. (d) shows a line profile along A-B in (c).

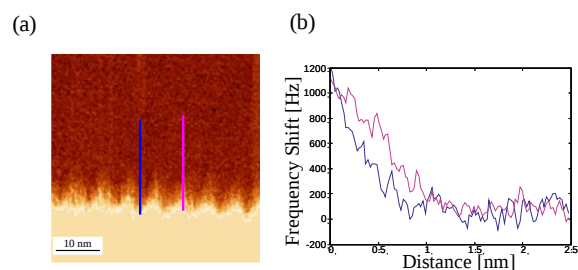


Fig. 2: (a) Two-dimensional frequency shift map on CP side of PM. (b) Frequency shift curves extracted from (a).

1) K. Umeda et al. Nanotechnology 26, 285103 (2015).