

生物系

光に反応するタンパク質の動きを実空間、実時間で撮影することに成功



金沢大学 理工研究域 日本学術振興会特別研究員 (SPD)
柴田 幹大

【研究の背景】

タンパク質が機能するときその形を変えますが、その様子を実空間、実時間で観察することは生命科学の「夢」です。2001年に金沢大学の安藤敏夫教授が世界に先駆けて開発した高速原子間力顕微鏡（高速 AFM）はこの「夢」を実現できる数少ない手法の1つですが、タンパク質が外部刺激（光、熱、pH変化等）を受けてその形を変化する様子を捉えた例は今までにありませんでした。

【研究の成果】

今回私たちは高速AFMを用い、バクテリオロドプシン (bR) が、光を受けて構造を変化する様子を世界で初めて実空間、実時間で撮影することに成功しました (*Nature Nanotechnology*, 5, 208-211, 2010)。bRとは高度好塩菌の細胞膜に存在する光駆動プロトンポンプタンパク質で、視物質ロドプシンと同様に7回膜貫通型構造をしています。bR内部に結合したレチナル分子が光を吸収すると反応が開始し、細胞質側から細胞外側へプロトンをポンプします。ところが、野生型の光反応サイクル (0.01秒程度) は速すぎるため高速AFMでもその構造変化を捉えることは難しいです。そこで私たちは反応サイクルが1000倍遅い変異タンパク質を用いました。

高速AFM観察により、光を受けたbR分子が三量体の中心から外側へ開く様子が明確に撮影されました(図1、AFM動画:<http://www.s.kanazawa-u>

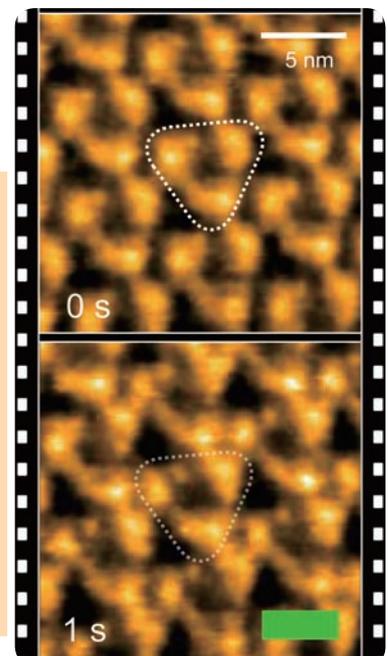
[ac.jp/phys/biophys/bR_movies.htm](http://www.s.kanazawa-u.ac.jp/phys/biophys/bR_movies.htm))。この動きはこれまでに考えられてきたbRの構造変化とよく一致します。また、この変異タンパク質は分光学的手法から基底状態へ戻る時間にpH依存性があることが知られていますが、高速AFMで撮影された構造変化も同様のpH依存性を示しました。さらに、野生型pH 10でも構造変化が観察されたことから、得られた高速AFM動画は真にbRの機能(光駆動プロトンポンプ)に由来する動きであると結論できます。

【今後の展望】

高速AFMを用いたタンパク質の直接観察は、研究者に限らず、多くの人々に「タンパク質はこう動く」という理解を与えるものと信じています。近い将来、さらに多くの生体分子に対して高速AFMを適用し、生体分子そのものの動きや、詳細な分子メカニズムを解明したいと考えています。

【関連する科研費】

平成20-22年度 特別研究員奨励費「イオン輸送タンパク質における動的構造変化の解析」



▶ 図1 光サイクルが遅い変異タンパク質の細胞質表面のAFM画像。光照射前(0s上図)と緑色の光を照射した後(1s下図)。これらの画像は1s/frameで撮影された連続画像である。これらの構造変化は光を切ると数秒で元に戻り、光照射により再現性よく何度でも観測される。一方、細胞外表面では、このような構造変化は観測されない。