

# 脂質二重膜中の埋め込まれた蛋白質1分子のエバネ ッセント場照明によるイメージング

著者	齋藤 究
著者別表示	Saito Kiwamu
雑誌名	平成11(1999)年度 科学研究費補助金 特定領域研究 (A) 研究概要
巻	1999
ページ	2p.
発行年	2016-04-21
URL	<a href="http://doi.org/10.24517/00060774">http://doi.org/10.24517/00060774</a>



# 脂質二重膜中の埋め込まれた蛋白質1分子のエバネッセント場照明によるイメージング

Research Project

All

## Project/Area Number

11122206

## Research Category

Grant-in-Aid for Scientific Research on Priority Areas (A)

## Allocation Type

Single-year Grants

## Research Institution

Kanazawa University

## Principal Investigator

齋藤 究 金沢大学, 理学部, 助手 (70301190)

## Project Period (FY)

1999

## Project Status

Completed (Fiscal Year 1999)

## Budget Amount \*help

¥2,300,000 (Direct Cost: ¥2,300,000)

Fiscal Year 1999: ¥2,300,000 (Direct Cost: ¥2,300,000)

## Keywords

近接場 / エバネッセント照明 / ATP合成酵素 / F1 / Gy3-ATP

## Research Abstract

本研究では、ATPの化学エネルギーを回転運動という力学エネルギーに変換しているATP合成酵素F1を研究対象としている。蛍光性ATPアナログCy3-ATPを使った1分子化学反応と、蛍光標識アクチンフィラメントを指標としたF1の回転運動を同時に観察することで、膜蛋白質F1の化学力学反応の詳細な機能解析を目標とした。

脂質二重膜に埋め込まれた蛋白質1分子を観察するために対物レンズ型のエバネッセント場照明顕微鏡を構築した。化学反応を可視化するためのCy3と回転運動を観察するためのBODIPY F1の両方の蛍光色素を同時観察できる顕微鏡にした。

F1の回転観察では、ガラス表面に対するF1の固定方法を改良した。F1にはHis-Tagを遺伝子工学の手法で導入してある。従来、ガラス表面に非特異的に吸着させたNiNTA-ペロオキシターゼにHis-F1を吸着させていたが、本研究ではNiNTAをBSAに結合させ、NiNTA-BSAをガラス表面に吸着させることでF1をガラス表面に固定した。この方法でも従来の方法と同様にF1の回転運動が観察され、F1が発生するトルクの大きさも同様であった。

次にNiNTA-BSAを介してガラス表面に固定したF1によるCy3-ATP1分子加水分解反応の画像化を行った。F1の存在する場所ではCy3-ATPの蛍光による輝点の点滅が観察された。これは、Cy3-ATPがF1に結合、F1により加水分解された後、Cy3-ADPとしてF1から解離していくことを意味している。

本年度までの研究でF1の回転運動とATP加水分解反応を1分子レベルで観察する環境が整った。今後は、両者を同時に観察することにより化学力学反応のカップリングを詳細に検討する。さらにF1を脂質二重膜に埋め込み同様の解析を行う。

# Report (1 results)

1999 Annual Research Report

# Research Products (2 results)

All	Other
All	Publications

[Publications] 齋藤究: "近接場光学の原理と生物科学への応用"蛋白質核酸酵素. 44. 807-811 (1999) ▼

[Publications] 齋藤究: "アンチストークス蛍光を用いた多色蛍光顕微鏡法"生物物理. 39. 316-318 (1999) ▼

URL:

Published: 1999-03-31 Modified: 2016-04-21