

AFMを使った運動タンパク質ミオシンのATP依存性構造変化解析

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 奨励研究(A) 研究概要
巻	1998 1999
ページ	2p.
発行年	2016-04-21
URL	http://doi.org/10.24517/00060783



AFMを使った運動タンパク質ミオシンのATP依存性構造変化解析

Research Project

All

Project/Area Number

10780405

Research Category

Grant-in-Aid for Encouragement of Young Scientists (A)

Allocation Type

Single-year Grants

Research Field

Biophysics

Research Institution

Kanazawa University

Principal Investigator

齋藤 究 金沢大学, 理学部, 助手 (70301190)

Project Period (FY)

1998 - 1999

Project Status

Completed (Fiscal Year 1999)

Budget Amount *help

¥700,000 (Direct Cost: ¥700,000)

Fiscal Year 1999: ¥700,000 (Direct Cost: ¥700,000)

Keywords

近接場 / エバネッセント照明 / G3-ATP / アクトミオシン / AFM / 蛍光イメージング / モータータンパク質

Research Abstract

モータータンパク質ミオシンの化学・力学エネルギー変換メカニズムを解明するため、化学反応(ATP加水分解反応)に共役した構造変化をミオシン1分子で同時に計測することを目的として研究を行った。

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。蛍光性ATPアナログCy3-ATPを使った化学反応を可視化するため、また、Cy3で標識してミオシン1分子を可視化するために励起には半導体レーザー励起のNb:YAGレーザーを使用した。同じレーザーで蛍光色素BODIPYFLで標識したアクチンフィラメントも観察する。Cy3とBODIPY FLの蛍光はダイクロイックミラーで分離し同じ観察が可能な光学系とした。この顕微鏡を使うことによりCy3-ATPを使った1分子ATP加水分解反応の可視化が可能となった。その確認のため、ミオシンと同じモーター

蛋白質分子であるATP合成酵素F1による1分子ATP加水分解反応可視化を行った。

ミオシン分子をガラス表面に固定する方法の改良を行った。ミオシンの化学反応と力学反応を同時に観察するためにはミオシンの活性を失わずにガラス表面に固定しなければならない。従来は洗浄のみのガラス表面か、化学的に疎水処理されたガラス表面にミオシン分子を固定していたので、活性が失われる場合が多かった。これはガラス表面と蛋白質分子が直接相互作用することによる。そこで、本研究ではガラス表面にアガロースをスピンコートし、その表面に蛋白質分子を固定とした。この固定方法では蛋白質分子の活性は保たれたままであった。蛋白質1分子とアクチンフィラメントを同時に観察する光学系が構築でき、蛋白質分子をガラス基板に固定する方法も開発することができた。この技術とAFMを組み合わせ、今後は化学反応中の構造変化を計測していく。

Report (2 results)

1999 Annual Research Report

1998 Annual Research Report

Research Products (3 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) ▼

[Publications] 齋藤究・船津高志: "近接場光学の原理と生物科学への応用" 蛋白質核酸酵素. (印刷中). ▼

URL:

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