

脂質二重膜中に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10(1998)年度 科学研究費補助金 特定領域研究 (A) 研究概要
巻	1998
ページ	2p.
発行年	2016-04-21
URL	http://doi.org/10.24517/00060846



脂質二重膜中に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

10135208

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)

1998

Project Status

Completed (Fiscal Year 1998)

Budget Amount *help

¥2,400,000 (Direct Cost: ¥2,400,000)

Fiscal Year 1998: ¥2,400,000 (Direct Cost: ¥2,400,000)

Keywords

近接場 / エバネッセント場 / 蛍光イメージング / モータータンパク質

Research Abstract

近接場照明を使って、タンパク質1分子の酵素反応を可視化し、それに共役しておこる物理反応(回転、滑り運動)を同時にイメージングすることを目的にして研究を遂行した。近接場照明を生体試料の蛍光観察に応用するときには、試料のガラス表面への固定が問題となってくる。生きたままの試料を観察するために必要な条件として蛋白質分子への影響が少ないことがあげられる。また、強固に結合していることや、取り扱いやすいことなども重要な点である。本年度は、これらの条件を満たす方法としてHis-Tagを用いた蛋白質分子のガラス表面への固定方法を試みた。ガラス表面にNi-NTAを結合させるために、ガラス表面にSH基を導入したあと、アミノ基の結合したNTA(AB-NTA、同仁)を結合させた。ATP加水分解酵素F1をHis-Tagを使用してガラス表面に固定し、その回転運動を観察した。大腸菌F1のaサブユニットに遺伝子工学の手法を用いてHis-Tagを導入した。gサブユニットに導入したシステインはビオチン化の後、ストレプトアビジンを介してビオチン化蛍光標識アクチンフィラメントと結合させた。スパーサーとなる蛋白質を介さずに、直接Ni-NTAをガラス表面に結合させても、F1の活性は失われていなかったことを示す。また、回転速度のアクチンフィラメント長さ依存性を計測し、F1の回転トルクを計測したところ、いままで報告されている値とほぼ同様な値が得られた。

Research Products (1 results)

All Other

All Publications

[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: <https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-10135208/>

Published: 1998-03-31 Modified: 2016-04-21