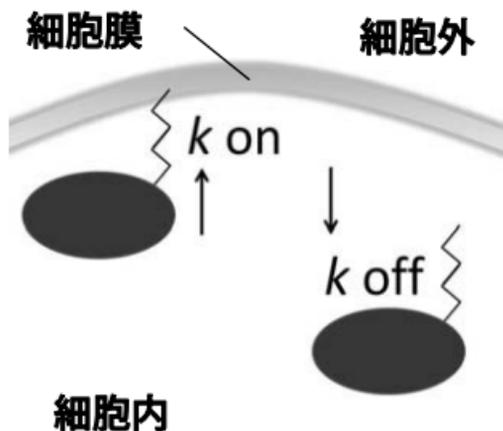


30E08-pm03

生きている細胞の内部において脂肪酸鎖付加タンパク質が細胞膜に結合・解離する際の速度定数を蛍光1分子イメージングによって決定する

○東條 正¹, 小畑 貴広¹, 秋山 麻衣¹, 井上 智博¹, 茶園 茂¹(¹日本大文理)



細胞膜の細胞内側の面には、脂肪酸鎖やプレニル基が付加されたタンパク質が結合・解離を繰り返している。

プロテインキナーゼC等に代表されるこれら刺激依存的膜結合型タンパク質は、細胞内情報伝達において重要な役割を果たしている。

しかしながら、これまでの知見の多くは刺激依存的に膜に結合したか否かを問う定性的な議論にとどまっている。

そこで我々は、定量的議論を行うことを可能にする測定系を構築することを試みた。蛍光タンパク質に脂肪酸鎖付加シーケンスを導入し、対物レンズ型全反射蛍光顕微鏡を用いて、蛍光タンパク質が細胞膜に結合・解離する様子を1分子レベルでリアルタイム観察を行った。

上記実験の結果、蛍光タンパク質が膜上に出現してから解離するまでの時間を測定し解離速度定数(k_{off})を求めることができた。また、細胞内蛍光タンパク質濃度を見積もることにより、生きたままの細胞内で起こっている結合解離現象の結合速度定数(k_{on})を決定することができ、解離定数(K_d)を求めることができた。