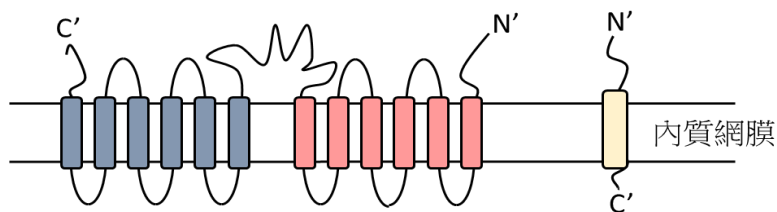


※磷酸轉運蛋白

小明目前正在進行植物磷酸轉運蛋白相關的研究。過去文獻指出，在模式生物阿拉伯芥中，細胞膜上的蛋白 A 家族是將無機磷運入細胞內的轉運蛋白，當其功能或表現位置異常，會導致細胞產生缺磷反應。細胞膜上的轉運蛋白通常會先由內質網上的核糖體轉譯，再藉由囊泡從內質網運輸到細胞膜。已知在內質網蛋白 B 喪失功能狀況下，則蛋白 A 家族無法順利抵達細胞膜。因此，小明推測蛋白 B 透過與蛋白 A 家族成員進行交互作用，來協助蛋白 A 家族前往細胞膜的過程。

小明想使用三分子螢光互補系統來研究蛋白 A 家族成員和蛋白 B 之間的交互作用。綠螢光蛋白 (green fluorescent protein, GFP) 可以用來標定欲觀測的蛋白質，以達到追蹤或定位細胞內蛋白質的工具。所謂三分子螢光互補系統，係在此基礎之上，將 GFP 分子拆解成 GFP10、GFP11 與 GFP1-9 三個多肽片段後，GFP10 接在其中一個蛋白質的胺基端，GFP11 接在另一個蛋白質的羧基端，再使兩個融合蛋白和 GFP1-9 片段共同表現於細胞內，三個片段組裝成完整的 GFP 後可發出螢光。

1. 已知蛋白 A 家族成員和蛋白 B 嵌入內質網膜的方向性 (圖一)，而且 GFP10 和 GFP11 需要位於膜的同一側，才有機會與 GFP1-9 片段進行重組。根據以上條件，下列哪一個實驗設計可以讓小明偵測到蛋白 A 家族成員和蛋白 B 之間有交互作用？



蛋白 A 家族成員

蛋白 B

圖一

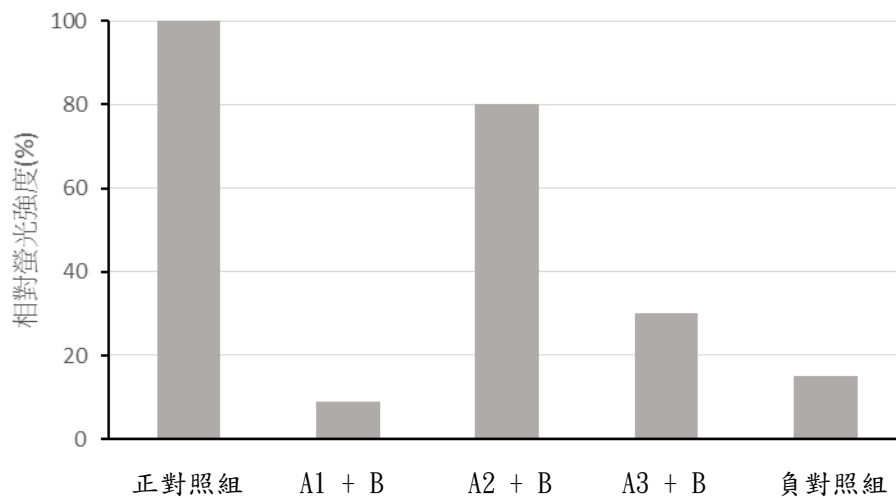
- (A) GFP10-蛋白 A 家族成員 + 蛋白 B-GFP11 + GFP1-9
- (B) GFP10-蛋白 A 家族成員 + GFP10-蛋白 B + GFP1-9
- (C) 蛋白 A 家族成員-GFP11 + GFP10-蛋白 B + GFP1-9
- (D) 蛋白 A 家族成員-GFP11 + 蛋白 B-GFP11 + GFP1-9

2. 正對照組指的是已知會有交互作用者，負對照組指的是已知不會有交互作用者。小明要加入正負對照組，以確保從三分子螢光互補工具得到的實驗結果可信。另外，他希望兩組對照組中的蛋白分布位置可以與蛋白 A 家族成員和蛋白 B 交互作用的位置一致。他整理出一份阿拉伯芥蛋白質的資訊（表一）。根據這份表格，哪個蛋白最適合作為正對照組？哪個蛋白最適合作為負對照組？

表一

名稱	分布位置	是否和蛋白 A 交互作用？
蛋白 C	細胞膜	+
蛋白 D	內質網膜	-
蛋白 E	內質網膜	+
蛋白 F	高基氏體	-
蛋白 G	液胞	+

3. 蛋白 A 家族成員共有三個：A1、A2 和 A3。為了研究蛋白 A 家族的全部成員是否都能與蛋白 B 發生交互作用，小明根據上述實驗設計，使用共軛焦顯微鏡來進行觀察，實驗結果如（圖二）。請問蛋白 B 最有可能協助蛋白 A 家族中的哪一個成員從內質網轉運至細胞膜？



圖二