1B1340

一次元溶液散乱曲線から低分解能三次元タンパク質像の計算

○高橋 義和^{1,2}、西川 幸宏¹、前田 雄一郎¹、藤澤 哲郎¹ (¹ 理研播磨・構造生物化学、² (株) 東レリサーチセンター)

近年中性子あるいは X 線溶液散乱で得られるたんぱく質一次元散乱曲線から低分解能 3 次元蛋白分子の envelope が推定できる可能性が示唆され現実のデータ解析にも使われ始めている (1)。すなわちたんぱく質を球充填モデルで近似し散乱曲線で最適化しようというものである。最初は遺伝アルゴリズムでの成功例 (2) に続き、焼きなまし法 (3)、モンテカルロ法 (4) とたてつづけに 3 種類の成功例が報告されている。このような逆問題は一般論として唯一解には収束しない。それにもかかわらず現実的な解を得られるのは、界面が連続的かつ平滑なたんぱく質に限定すること、シャノンのサンプリング数よりも多くの測定点で散乱曲線を計測することによって考えられる。本発表では、SPRing-8/BL45XU で計測された筋肉たんぱく質、ミオシン頭部 S1 とトロポニン C の溶液散乱データを使用し、3 種類のアルゴリズムの球充填モデル収束過程を動画にし、それぞれのアルゴリズム特徴を比較する。

参考文献

- (1) 藤澤哲郎 (2000) 日本結晶学会誌 42, 97-105.
- (2) Chanson P. *et al.* (1998) *Biophys J.* **74**, 2760-2775.
- (3) Svergun D.L. (1999) *Biophys.J.* **76**, 2879-2886.
- (4) Walther D. *et al.* (2000) *J.Appl.Cryst.* **33**, 350

Y.Takahashi, Y.Nishikawa, Y.Maeda and T.Fujisawa : The calculation of low resolution three-dimensional protein shape from one-dimensional scattering profile

1B1420

ビデオ原子間力顕微鏡

○安藤 敏夫¹、丸山 大輔¹、齋藤 究¹、戸田 明敏² (¹ 金沢大・理・物理、² オリジナル光学工業)

いま我々は、原子間力顕微鏡により、生きた生体分子のナノメーター世界を観察することができる。しかしながら、現状の走査速度は遅く (1 画像/分のオーダー)、実質的に静止画像としてしか観察することはできない。そこで我々は、原子間力顕微鏡に含まれる諸デバイスを大幅に改良して、走査速度を飛躍的に向上させることをこの数年間目指してきた。長さ 10 μ m、幅 2 μ m、厚さ 140nm、水中での共振周波数が 475kHz、バネ定数が 143pN/nm の特性をもつカンチレバーを開発することに成功した。この極めて小さいカンチレバーに対応できる新しい光テコ光学系も開発した。新しいデザインにより、共振現象がほとんど起こらないスキャナーを開発することに成功した。これらを組み上げ、1 画像を 1 秒以下で撮れる高速原子間力顕微鏡を完成させた。液中にある試料の像を 50 フレーム以上連続的に、且つ、安定に撮ることができるようになった。それ故、液中にあるナノメーター世界を動画映像として観察することが可能になった。本講演では、装置の詳細を説明し、得られた動画像をビデオで紹介する。また、更なる高速化の可能性についても議論する。

T. Ando, D. Maruyama, K. Saito and A. Toda : Cinema vision of atomic force microscope

1B1400

リアルタイム共焦点顕微鏡によるラット摘出灌流心内カルシウム波の観察とその特性

○金子 智行^{1,2}、田中 秀央³、小山田 正人²、河田 聡¹、高松 哲郎² (¹ 阪大・院工・応物、² 京府医大・二病、³ 京府医大・臨検)

従来より培養心筋や単離心筋細胞などで観察されているカルシウム波は、実際の心臓において振動性の収縮波や後脱分極などを生じ、不整脈の原因になると考えられている。しかし、実際の心臓においてカルシウム波が不整脈とどのように関連しているかは方法の制限から解析できなかった。そこで我々はランゲンドルフ灌流下のラット摘出心に、カルシウム蛍光指示薬である fluo-3/AM を経冠動脈的に負荷した後、心電図モニタ下における心筋細胞内カルシウム動態をリアルタイム共焦点レーザ顕微鏡で観察した。

その結果、摘出灌流心の心筋細胞で観察されたカルシウム波を発生頻度と細胞間伝播の確率で比較することにより三種類に分類した。第一は発生頻度が少ないカルシウム波 (sporadic wave) である。第二は隣接した細胞に伝播する確率の高いカルシウム波 (Ca^{2+} -overloaded wave) である。この近傍には細胞内カルシウム濃度が極端に高い細胞が存在している。第三は発生頻度が高いカルシウム波 (agonal wave) である。この細胞は、数分後には細胞内カルシウム濃度が高いまま動かなくなる。

したがって、sporadic wave は発生頻度も少なく、電気的興奮により消失することから、不整脈の原因になるとは考えにくい。しかし、 Ca^{2+} -overloaded wave は心筋細胞間を伝播し広範囲に不規則な動きをもたらす可能性があり、不整脈の発生に大きく関わっていると示唆される。一方、agonal wave は発生頻度は高いのだが、細胞間を伝播することは少なくそれ自体では不整脈を起こす原因にはならないと考えられる。(この研究の一部は日本学術振興会未来開拓研究「生体の計測と制御」によるものである。)

文献 Kaneko *et. al.*, *Circ. Res.*, **86**, 1093-1099, 2000

T. Kaneko, H. Tanaka, M. Oyama, S. Kawata and T. Takamatsu : The observation and characterization of the Ca^{2+} waves in the perfused rat whole heart with real-time confocal microscopy.

1B1440

ジャイアントリボソームの自己複製反応システムの解析

○豊田 太郎¹、山田 幸司¹、高倉 克人¹、安田 賢二¹、四方 哲也²、菅原 正¹ (¹ 東大院・総合、² 阪大・工・応用生物/東大院・総合)

生命の最小単位である細胞のもつ様々な機能をとらえ直し、細胞という分子構造体を再定義し、比較的簡単な有機分子のみでその定義に従うような高階層性反応システムを構築することを目指している。

現在、そうした「プロト細胞モデル」として最も有望視されている系が、両親媒性分子で構成される袋状 2 分子膜、リボソームである。近年では、その製法過程に技巧を凝らすことで、粒径数十ミクロンという大きさを持つジャイアントリボソームを生成できることが発見された (1)。また、リボソームを分散させたアルカリ性水溶液に、両親媒性分子前駆体を加えると、リボソームが養分として前駆体を取り込み、加水分解反応により構成分子へと変換する。その結果、生長・分裂を引き起こし、子リボソームを複製し増殖することが報告されている (2)。しかし、これまでの報告では、ジャイアントリボソームが形態変化し、自己複製する過程が視覚的に追跡されているが、養分が実際にリボソーム膜に取り込まれて複製するという反応自身は、未だ追跡されていない。

今回我々は、オレイン酸ジャイアントリボソームをアルカリ性水溶液中で作製し、その水溶液に対し、前駆体として蛍光部位 BODIPY を組み込んだ非対称無水カルボン酸を滴下する実験を行った。本講演では十数時間にわたって観察した結果をビデオで示すと共に、ジャイアントリボソームが複製過程で織りなす、空間的パターン形成を新たに見出したので、これについても報告する予定である。

- (1) P.L.Luisi, P.Walde, Eds, *Giant Vesicles* ; Wiley 2000
- (2) R.Wick, P.Walde, P.L.Luisi, *J.Am.Chem.Soc.* 1995,117,1435-1436

T.Toyota, K.Yamada, K.Takakura, K.Yasuda, T.Yomo and T.Sugawara : Analysis of the autocatalytic self-reproduction of giant liposomes