3G1630

超微粒子を用いた X 線リソグラフィ用のマスク作製

○和川 明俊¹, 前田 洋¹, 吉村 英恭¹, 山下 一郎² (¹ 明治大・理工・物理, ² 松下・先端研)

【序】超 LSI などの半導体の製作においては微細なマスクパターンを作る必要がある。我々はタンパク質を使って数ナノメートルのパターンを作る技術を目指している。フェリチンはタンパク質内部に 6nm 程度のコアを形成することが知られているが、このフェリチンを 2 次元結晶化することにより、規則的な配列のマスクとすることを目標としている。今回はこのための準備として 1 μ m の Pt 粒子を PMMA レジスト上にのせマスクパターンにできることを確認した。【実験】1 μ m の Pt 粒子の蒸留水混合液を PMMA-Si 基盤に載せて自然乾燥させ、Pt 粒子を Si 基盤に付着させたのち、X 線を照射し感光させた。4-メチル-2-ペンタノンと 2-プロパノールの 50 % 混合液でエッチングし、2-プロパノール 100 % 液でエッチングを停止させた。X 線は 10KV 加速電圧の電子線を Al ターゲットに照射して発生させた。【結果】落射照明型光学顕微鏡を用いて現像後の Si 基盤表面に 1 μ m スケールの凹凸が形成されたことを確認した (図)。今後はサブミクロンの粒子やフェリチンによる微粒子 (直径 6nm) を Si 基盤上にパターン化させ、エッチングをして、AFM などでも観察する予定で

ある。

A.Wagawa, H.Maeda, H.Yoshimura : Mask pattern for X-ray lithography using micro or nanoparticles.

3H0915

組み込みメカニズムに基づく膜貫通トポロジー予測

○伊藤 華子¹, 池田 修巳¹, 清水 俊夫² (¹ 弘前大・院理・情報, ² 弘前大・理工・電子情報システム)

膜貫通タンパク質配列の最も N 端側の膜貫通セグメント (第 1 セグメント) は出現と同時にシグナル認識粒子 (SRP) によって認識され、膜への組み込みが始まる。SRP は負電荷を帯びた RNA、膜貫通セグメントと結合する疎水性グロブから構成されている。このことを基にして次のような第 1 セグメント同定ルールを見出した。

膜貫通タンパク質配列の N 端側から C 端側へ向かって、長さ 23 のウィンドウをシフトさせながら平均疎水性度 (K-D 尺度) を計算する。その値が 1.8 以上であれば、それだけで第 1 セグメントとして同定する。0.65 以上、1.8 未満のものについては、N 端側直前に正電荷を持ち、ウィンドウ中の荷電残基数が 4 以下であれば、第 1 セグメントであると判断する。

このルールには、我々が収集した実験的裏付けのある膜貫通トポロジーデータセット (105 エントリー、non-redundant) 中の 91% にあたる 95 エントリーの第 1 セグメントが当てはまった。このルールに当てはまらなかったものは 10 エントリーであった。このなかの 6 つは N 端ループが極端に長いものであり、これらには別に扱いが必要であると思われる。

さらに、セグメントの方向性 (N 端が内側か外側か) を決定する要因を特定できてはいないが、セグメント周辺の電荷分布、下流セグメントとの文脈的關係などについて現在解析中である。

H. Ito, M. Ikeda, T. Shimizu : Transmembrane Topology Prediction based on Integration Mechanism

3H0900

誘導物質の結合によるアロステリック効果と DNA 長の変化によるアンテナ効果が CamR の転写抑制能を制御する。

○加畑 博幸¹, 鷲津 正夫¹, 荒牧 弘範², 嶋本 伸雄³ (¹ 京都大・院工・機械工, ² 第一薬大・薬・分子生命化, ³ 遺伝研・構造遺伝学研究セ・超分子機能)

ホモダイマー型転写抑制タンパク質は、ダイマー 1 分子当たり 2 つの DNA 結合モチーフを形成し、また 2 分子の誘導物質と結合する。結合した誘導物質が各々 DNA 結合モチーフの配置を変えることでタンパク質とオペレーター DNA との結合の親和性が変化し、転写の抑制と解除が切替わる。同様に、CamR のオペレーター結合も誘導物質 2 分子によって制御されていると想定されてきた。そこで、CamR、オペレーター DNA、そして誘導物質の 3 者間の結合の親和性と化学量論比を決定した。CamR は、同じ構造ファミリーの一員である TetR にはない、以下の特有の転写抑制機構を有していた。

・CamR への 1 分子目と 2 分子目の誘導物質の結合は負の協同性、つまりアロステリック効果を示した。

・1 分子目の誘導物質が CamR と結合しても CamR とオペレーターとの親和性は不変で、2 番目に結合した誘導物質がオペレーター DNA から CamR を解離させた。TetR の場合は 1 分子目の結合だけでオペレーターとの親和性が 1,000 倍低下する。

・オペレーター DNA が 32 bp から 136 bp へ、さらに 410 bp へと長くなると、CamR との親和性は 7 倍および 110 倍増加した。これは、競争阻害が起こらない範囲ではより長い DNA がタンパク質の特異的結合を促進するアンテナ効果 (N. Shimamoto. *JBC* 274, 15293, 1999) の存在を裏付けている。この効果はタンパク質分子の DNA 上におけるスライディング運動に起因するが、確かに CamR はスライディングすることを CamR の分子運動を可視化することで証明した。

本会では CamR と TetR の転写抑制機構の差異の原因を、生理的機能の違いから考察する。

H.Kabata, M.Washizu, H.Aramaki and N.Shimamoto : Transcriptional repression by CamR is governed by allostery upon effector binding and the antenna effect of DNA length.

3H0930

Topology Pattern and Classification of Transmembrane Proteins

○Polulyakh Natalia¹, 齊藤 耕平¹, 新居 真吏², 清水 俊夫³ (¹ 弘前大・院理・情報, ² 弘前大・理・情報, ³ 弘前大・理工・電子情報システム)

The transmembrane protein function seems to consist of the combination of factors, such as the number and spatial arrangement of transmembrane segments (TMSs), etc., and loop characteristics (location, length), etc. For example, in the transmembrane subunit of the glucose transporter protein (IICGlc), a bundle of 8 transmembrane segments participate actively in the glucose transportation. The two loops on the cytoplasmic side play an important role as glucose binding and phosphorylation sites, although short loops on the extracellular side seem not to be so functionally important. In this study, we intend to examine an idea whether it is possible to classify transmembrane proteins by their functions according to the characteristics of TMS(s) and loops mentioned above. In our trials we classify loops in two categories by length: "long" and "short". The "long" one could be functionally active, while the "short" one couldn't have any important roles. Accordingly, there are 16 topology patterns for 3TMS protein without the consideration of loop location (inside or outside), and 32 if considered. We made an attempt to find some rules, which can describe the correspondence of a topology pattern to a certain protein function. As an example proving our supposition, we have found that in Pfam families with the dominant inclusion of transmembrane proteins with the same number of TMS, the same topology pattern proteins have a strong tendency to correspond to the similar function.

N. Polulyakh, K. Saito, M. Arai and T. Shimizu : Topology Pattern and Classification of Transmembrane Proteins