1C1130

導波管端アンテナを用いた生体照射

○寺中 正人¹、土井 昭孚¹、立川 敏明¹、出原 敏孝²、難波 経豊³ (¹ 香川医科大学基礎放射線学、² 福井大学遠赤外領域研究開発センター、³ 香川県立医療短期大学)

我々は、ミリ波、サブミリ波の生体照射と医学応用への研究を行っている。この研究の基礎実験として、ウシ肝臓を試料として照射実験を行った。

ミリ波光源として、QUINSTAR 社の Impatt oscillator QIO9425CK (94.26GHz, 300mW) を用い、伝送は導波管を用いて、導波管端アンテナに、テフロンロッド、およびテフロンシートを加工、装着して、ミリ波照射とそれによる動物組織の変性について調べた(図参照)。反射率を減らすために、ミリ波が通過する物質内の誘電率の差および厚さを段階的に変化させた。その結果、従来のテフロンロッドアンテナより反射率を小さくすることができた。

また上記の実験結果は、光学の薄膜干渉理論を用いて、定性的に説明することができた。

これらの結果について報告する。

M.Teranaka, A.Doi, T.Tatsukawa, T.Idehara, T.Nanba : Irradiation for living body using waveguide vent antenna with dielectrics

1D0900

ハロロドプシンのアニオン結合能に関する量子化学的研究

○坂田 圭子、中島 佐和子、井上 義夫、櫻井 実 (東工大院・生命理工)

エネルギー勾配に逆らってイオンを輸送する分子ポンプの代表例として、バクテリオロドプシンやハロロドプシンが挙げられるが、これらの分子ポンプはどのようなメカニズムで輸送をおこなっているのか。アニオンポンプのハロロドプシン (HR) の X 線構造が最近になって発表され、このポンプのメカニズムの理論計算によるアプローチが可能になった。HR は、in vivo では主として Cl⁻ イオンをポンプするが、Br⁻、I⁻、NO₃⁻ などとも結合する。興味あることに、これらの会合定数は、Br⁻ > Cl⁻ > I⁻ > NO₃⁻ の順であり、Cl⁻ の値が最も大きいわけではない。この序列を決めている因子を明らかにすることは、HR のイオン輸送機構を理解する上で重要である。本研究では、タンパク質中のアニオンの安定化因子を量子化学計算により検討した。HR 重原子の初期構造として、PDB に登録されている X 線結晶構造 (PDB code: 1E12) を用いた。構造最適化計算および一点計算には、MOZYME 法を用い、パラメータとしては AM1 法を用いた。アニオンが水中から HR の結合サイトに取り込まれる際の自由エネルギーは熱力学サイクルに基づいて評価した。HR とイオンの相互作用エネルギーの計算には、MOZYME 法を用いた。その結果、上述した実験による会合定数の傾向 (Br⁻ > Cl⁻ > I⁻ > NO₃⁻) を再現できた。また、詳細な解析の結果、アニオンの HR への移行自由エネルギーには、アニオンの脱溶媒和エネルギーが決定的な役割を果たしていることが判明した。一残基変異体 R108Q は Cl⁻ を輸送しないことが知られている。X 線構造からこの変異体を作り、構造最適化を実行した。その結果、R108Q では Cl⁻ イオンがタンパクに結合しないことが判明し、R108 はイオンの安定化に必須であることが示された。

K. Sakata, S. Nakajima, Y. Inoue, M. Sakurai : Quantum chemical study on the anion affinity of Halorhodopsin

1D0915

脊椎動物の視覚サイクルの起源—ホヤの視覚サイクル特異的遺伝子群

○中島 由紀¹、日下部 岳広¹、日下部 りえ¹、堀江 健生¹、岩本 英男¹、寺北 明久²、七田 芳則²、津田 基之¹ (¹ 姫工大院、² 京大院)

尾索動物ホヤのオタマジャクシ型幼生は、非常に単純ながらも脊椎動物の基本的な中枢神経系の構造を有している。このホヤ幼生の脳胞には平衡器、眼点と呼ばれる2つの感覚器官が存在する。我々はカタユレイボヤ *Ciona intestinalis* から3種類のオプシン遺伝子 (Ci-opsin1, Ci-opsin2, Ci-opsin3) を見いだした。Ci-opsin1 は眼点の視細胞に発現し、Ci-opsin2 は脳胞で視細胞以外の特定部位、Ci-opsin3 は脳胞及び運動神経節で特異的に発現する。Ci-opsin3 はレチナール異性化酵素である、イカのレチノクロームや哺乳類の RGR と高い類似性を有している。この Ci-opsin3 の組換えタンパク質を HEK293S 細胞に発現させてレチナールと再構成しビグメントを得た。ビグメントは 520 nm に吸収極大をもつが、光照射により 364 nm と 466 nm に吸収極大をもつ光産物となる。その光反応を分光法ならびに HPLC により調べた。その結果、Ci-opsin3 は all-trans retinal と結合し、光により 11-cis retinal へと異性化させる機能を有していることが示された。以上の結果から Ci-opsin3 がホヤ幼生において光依存的な視覚サイクルに関与することが示唆された。哺乳類の網膜色素上皮細胞では、視覚サイクルではたらくタンパク質が RGR 以外にもいくつか知られている。そのうち2種類のタンパク質 (beta-CD/RPE65, CRALBP) のホヤホモログの cDNA を得た。いずれも Ci-opsin3 とほぼ同じ発現パターンを示した。これらの結果をふまえ、脊椎動物の視覚サイクルの起源について考察する。

Y.Nakashima, T.Kusakabe, R.Kusakabe, T.Horie, H.Iwamoto, A.Terakita, Y.Shichida, M.Tsuda : Visual cycle genes in ascidians: insights into the origin of the vertebrate visual cycle

1D0930

バクテリオロドプシンの基底状態 bR および M 中間体活性中心の pKa 制御に関する量子化学計算

○中島 佐和子、大野 一樹、井上 義夫、櫻井 実 (東工大院・生命理工)

バクテリオロドプシン (BR) は *Halobacterium salinarum* の紫膜中に存在する膜タンパク質であり、光吸収によりプロトン膜の内側から外側へ能動輸送する。プロトン輸送はレチナールシッフ塩基の pKa 変化に起因し、さらにその方向性はタンパク質中に存在する解離性アミノ酸残基や水分子の pKa 変化により制御されると考えられている。基底状態 bR においてレチナールシッフ塩基はカウンターイオンである Asp85 とイオン対 (RSB-D85) を形成し安定化しており、光吸収後 M 中間体を形成する過程で Asp85 により脱プロトン化される。本研究ではタンパク質全体を考慮した量子化学計算から RSB-D85 の相対 pKa を計算し、タンパク質、特に RSB-D85 周辺に存在する水素結合ネットワークによる pKa 制御について検討した。5つの X 線構造 (PDBcode: 1C3W, 1F4Z, 1KG8, 1C8S, 1DZE) を初期構造とし、MOZYME 法の AM1 ハミルトニアンにより構造最適化を行った。ここで得られた構造をもとに当研究室で開発した integrated (MOZYME+DFT) 法を用いて pKa を評価した。計算の結果、bR での RSB-D85 の相対 pKa は 28.46、M 中間体では 1DZE を用いた場合 -6.74 となり、実験との良い一致が示された。4つの X 線構造の比較から、M 中間体において RSB-D85 近傍に位置する Thr89 に2つの異なる配向が存在することがわかった。Thr89 の OH 基をシッフ塩基の方へ向けるか (A) 又は Asp85 の方へ向けるか (B) である。5つの X 線構造に対し Thr89 の配向を A から B に変化させたところ、全ての X 線構造において相対 pKa が減少するという結果を得た。1C8S と 1DZE ではそれぞれ 9.09、28.19pKa 減少し、RSB-D85 のプロトン化状態を zwitter から neutral に切り替えるに至った。今回はこうした Thr89 の配向による pKa 制御のメカニズムについて報告する。

S. Nakajima, K. Ohno, Y. Inoue and M. Sakurai : Quantum Chemical Study of the pKa control for the active site residues in Bacteriorhodopsin and its M intermediate