1O1700

光学顕微ナノ計測装置における光源輝度とプロープ座標計測ノイズ

○上池 伸徳¹、南野 徹¹、西條 由見子¹、大澤 研二^{1,2}、難波 啓一^{1,3} (¹ERATO・難波プロジェクト、²名大院・多元数理、³阪大院・生命機能)

我々はサルモネラべん毛モータの回転機能をより直接的に明らかにするために、1) 直線型フックに標識した40 nm 径微小蛍光ビーズの回転を高時間分解・高空間分解で観測できる光学顕微ナノ計測装置を製作し、2) ベン毛モータ構成蛋白質それぞれがどのような形でイオン(プロトン)透過を担っているかを解明するために脂質平面膜法による極微小電流測定システムを立ち上げた。最終的には両者を組み合わせて、単一のベン毛モータの回転とプロトン電流の同時測定により入出力の関係解明を目的としている。今回は、主にベン毛モータの回転ステップを見るための測光装置の計測ノイズの低減について報告する。Hg ランプを光源とする測光装置でガラス面に固定したビーズの位置計測を行うと、標準偏差が約35nmの等方的ガウス分布となった。この座標ノイズはセンサーや蛍光強度のノイズによる。この種のノイズは信号強度を上げるとその平方根に逆比例して減少する。そこで色素レーザーを用い光源輝度をほぼ10倍高くしたところ、座標ノイズは40nm から22nm に減少した。この数値が強度変化から予想される約13nm より大きい原因は、色素レーザーの励起光源であるアルゴンレーザーの冷却水による機械的な周期的ノイズ(100Hz 程度)の重畳が原因で、それを補正した結果、座標ノイズは約15nm まで減少した。よって、この機械ノイズの原因を取り除き光源輝度をさらに高めれば、ベン毛モータの回転ステップが見えてくる可能性が高くなると期待される。また、His-TAG を利用した新しい方法で精製されたMot 複合体(モータの固定子でプロトン透過経路)が、脂質平面膜のカチオン透過性を上昇させる事についても報告する。

N.Kami-ike, T.Minamino, Y.Saijo, K.Oosawa and K.Namba : Noise reduction in the probe position by increasing the light intensity in nanophotometry

1R0900

数量化法による mRNA の翻訳開始信号の解析: +4 から+6 位置の塩基の信号強度に与える効果

○飯田 陽一、金具 大介(北大院理・化学)

脊椎動物の mRNA の翻訳開始信号として、コンセンサス配列(GCC)GCC(A or G)CCATGG が知られているが、実際の配列はそれと多少な差がある。Kozak はキャップから最も近い第1 ATG コドン(A の位置を+1 とする)の+4, +5 および+6 位置に変異を導入し、リボソームが第1 ATG またはさらに下流にある第2 ATG のどちらを選択するかを観察した(1)。+4 に G がある開始コドンをもつ6種類の mRNA では第1 コドンが強く選択されたが、+5 や+6 に変異がある mRNA では ATG の認識にほとんど影響がなかった。しかし+4 に G、+5 に T の組み合わせからなる mRNA では、第1 ATG からの翻訳の効率が例外的に低下すること認められた。これらの実験における配列中の塩基位置の重要度や、その位置での塩基の種類を重要度を定量的に評価するため、我々は数量化法による解析を行った。この方法は我々が以前 preproinsulin II mRNA の翻訳開始信号配列を解析するために用いたもので(2,3)、今回は-12 から+6 の18 塩基の配列について解析をおこなった。解析の結果、+4 の G は信号の強度をかなり増大させるが、+5 と+6 の位置では塩基の種類によらず、強度にほとんど影響を与えない。ところが+4 が G で+5 が T の時には、強度は非常に減少する。その理由は+5 の T が信号に強い負の効果を与え、+4 の G による正の効果を相殺するからである。これらの結果は、上述の Kozak の実験データをよく説明できる。(1) M. Kozak, EMBO J., 16, 2482 (1997). (2) Y. Iida and T. Masuda, Nucl. Acids Res., 24, 3313 (1996). (3) 飯田陽一、多変量解析事例ハンドブック(柳井他編)、朝倉書店 (2002)。

Y. Iida and D. Kanagu : Quantification analysis of translation initiation signal of mRNA: Effect of nucleotides from +4 to +6 on strength of signal

1O1715

単一高分子鎖の自励振動

○眞山 博幸^{1,2} (¹ 科技団・CREST、² 京大院・理・物理)

生体中の強い熱揺らぎの影響下で方向性の運動を作り出している分子モーターの動作原理に大変関心がもたれている。この問題に関連して、我々は、非平衡開放条件下にあるメソスコピックな1次相転移系(単一高分子鎖)が、適当なフィードバック環境下で凝縮状態→コイル状態間で自励振動(周期的な高次構造変化)を引き起こすといった理論的モデルを考察した¹⁾。この考察を実験的に検討するために温度応答性を示す DNA 単分子鎖の折り畳み相転移(1次相転移)と光ピンセットの焦点で形成した局所加熱場(温度勾配)を競合させる系を構築し、単一高分子鎖から自励振動を発現させることに成功した(図1参照)^{2,3}。ここでは自励運動の機構について議論したい。

References:

1. K. Yoshikawa and H. Noguchi, *Chem. Phys. Lett.*, **303**, 10 (1999).
2. H. Mayama et al., *Chem. Phys. Lett.*, **330**, 361 (2000).
3. H. Mayama and K. Yoshikawa, *Faraday Discussion*, **120**, 67 (2001).

図1 レーザ場における単一高分子鎖の自励振動(模式図)。1→2→3: 凝縮状態のDNAがレーザー焦点で捕まると、加熱され、解けてコイル状態となる。4→5: 1: 低温部に侵入した単分子鎖の末端で凝縮部が形成・成長し、再び凝縮状態となる。ここでは温度上昇に伴う凝縮状態→コイル状態の温度依存性を実験的にデザインした。

H. Mayama : Self-oscillating polymer chain in a laser field

1R0915

ロイシン-リッチ・リピート蛋白質の幾何学的解析

○エンヘバヤル プレジャブ¹、大崎 満¹、神谷 昌克²、松嶋 範男³ (¹ 北大院・農学系・応用生命科学、² 北大院・理学系・生物科学、³ 札幌医大・保健医療学部・物理)

ロイシンリッチリピート(LRR)を含む蛋白質は、バクテリアからヒトまで1000種類以上の蛋白質に見いだされておりその数は爆発的に増加している。LRR蛋白質は、植物の病原体抵抗性、動物の自然免疫、アポトーシス、細胞接着、遺伝子の組み替え、DNA修復、転写などの様々な機能発現に関与している。LRRはロイシンを主に疎水性残基を規則的に含む20~30残基の長さを一単位として繰り返されるタンデムリピートである。LRRの繰り返しの数、繰り返しの単位の長さおよびコンセンサス配列などにおいて著しい多様性を示し、蛋白質立体構造の原理を理解する上で格好の材料を提供していると思われる。

これまで、リボスクレアーゼ・インヒビター(RI)を含めて11種類のLRR蛋白質の立体構造が解かれている。RIは16回繰り返すLRRドメインをもち、それぞれのLRRモチーフは、 β -シートと α -ヘリックスの超二次構造をとる。また、Inl Bは8回繰り返すLRRドメインをもち、それぞれのLRRは β -シートと3/10-ヘリックスの超二次構造をとる。さらに、YopMは15回繰り返すLRRドメインをもち、それぞれのLRRは β -シートと伸びた構造の超二次構造をとる。このように、LRRの多様性を反映したさまざまな超二次構造をとっている。そして、これらのLRR蛋白質はすべて分子全体として馬蹄形をしている。馬蹄形の内側では β -シートがスタッキングし、ソレノイドコイルとしてみなされている。

本研究では、LRR蛋白質の立体構造比較を定量的に行うために、原子座標を使った幾何学的解析の方法を開発した。本講演では、その解析法を構造既知のLRR蛋白質に適用した結果も報告したい。

P.Enkhbayar, M. Oosaki, M. Masakatsu and N. Matsushima : Geometrical analysis of leucine-rich repeat proteins