S1Y55

ランダムアミノ配列からのタンパク質機能の初期進化

○四方 哲也^{1,2,3} (¹ 阪大院情報、バイオ情報、共生情報、² 阪大院工、応用生物、進化生命、³ 阪大院生命機能)

【目的】生物に存在する酵素などのタンパク質は高い機能を示す。このような性質をもったアミノ酸配列はどのように進化してきたのだろうか。原理的には過去に何が起きたかを証明することは難しい。ここでは現在過去未来の時間に寄らず可能である進化のルールを探索するために、ランダム配列を持った初期ポリペプチド（140アミノ酸）を調整し、幾つかの試験管内進化実験を行なった。実験結果を元に以下の具体的な質問に答えたい。1）20の140乗の可能なアミノ酸配列のうち、何種類の配列から始めれば機能を進化させることができるか？2）各進化世代でどの程度の配列多様性が必要か？3）同じ初期配列から2つの異なる機能への進化は可能であろうか？4）任意に選んだ2つの初期配列から同じ機能を進化させられるか？【結果と考察】わずか10種類のランダムアミノ酸配列を無作為に選び、エステラーゼ反応の遷移状態アナログ 4-carboxybutyl-phosphonate (CAII) に対する結合能による選択とランダム変異を繰り返した。各世代での配列多様性は10種類だけとした。進化世代を重ねるにつれて、エステラーゼ活性が進化することがわかった。別の実験と進化実験として、任意に選んだ1種類のランダム配列からファージ感染能を元を選択と変異を繰り返すと数世代でファージ感染能を司るポリペプチドが進化した。さらにファージ感染能の進化実験でもちいた初期ランダム配列から、DNA 結合能や溶解性が進化させた。溶解度については別の配列からも進化可能であった。以上の実験より、配列空間上には広大な機能領域が存在していることが示唆された。

T. Yomo : Experimental evolution of protein function from random sequences

S2M51

形と物性のダブルイメージング

○猪飼 篤（東工大・生命理工）

The atomic force microscope (AFM) is an extremely versatile instrument which enables us not only to take morphological images of biological structures under physiological conditions but also to measure various mechanical interactions between the AFM tip and the sample materials. Many researchers including ourselves have used this unique feature of the AFM to measure the tensile property of single protein molecules, distribution of Young's modulus over cell surface under various phases of cell cycle, ligand-receptor interaction force and its application to receptor mapping over a living cell surface, direct extraction of membrane proteins from cell surfaces, extraction of DNA from purified chromosomes, and harvesting mRNA from targeted localities of moving cells, for example. Since most of these work can be done under direct view of an optical microscope or in parallel with imaging with the AFM itself, it is possible to have an overlay of the result of measurement of local physical properties on a morphology of the sample.

A. Ikai : Physical Mapping and Morphological Imaging of Biomolecular Structures by Atomic Force Microscopy

S1Y56

生命の起源研究における未解決課題について

○大島 泰郎（東葉大・生命）

生命の起源については多くの根元的な課題が未解決である。ここでは、私の好みの課題をいくつか取り上げて、どのような実験が可能か討論してみたい。（1）生体高分子の耐熱性：生命の熱水起源仮説が正しいなら、化学進化実験は熱水中で行うべきである。江上・柳川は熱水中の化学進化実験を報告し、Millerは逆に、氷点付近の化学進化を提案している。高温下には不安定なRNAを主役に考えるなら、RNAの安定化機構が必要である。RNAの不安定性は、リボースの2'のOH基のせいであるが、これをメチル化などで保護してはいけない。このOH基こそリボザイムの活性中心だからである。私の提案はアミン類のRNAに対する保護作用に注目してはどうかというものである。（2）なぜタンパク質アミノ酸は20種か：同様に「なぜ核酸塩基は4種か」であるが、CrickがAとI（イノシン）の2文字系を提案している。好熱菌の酵素はCys残基を含まず19アミノ酸でタンパク質を作っているから、20種に限るわけではないだろう。アミノ酸の種類を制限してタンパク質のde novo合成実験をすることは可能である。逆に、21種とか22種に増やす研究があり、私もそのプロジェクトに参加していたこともある。（3）生命と非生命の境界は可逆か：化学進化実験に対する批判の一つに「死体を作っているだけではないか」というものがあるが、これまで化学進化実験の研究者はこの批判に答えていない。大腸菌の抽出液から「生きている細胞」は作れないだろうか？今では、実験の技術が上がり、大腸菌のエネルギー代謝やタンパク合成、核酸合成は無細胞系で高い活性を再現できるから、案外、実験的に可能な課題になりつつあるのかもしれない。

T. Oshima : Fundamental subjects in the studies on the origins of life

S2M52

Digital signal transduction in the cell membrane as revealed by single molecule bionanotechnology

○Kusumi Akihiro^{1,2} (¹Kusumi Membrane Organizer Project, ERATO, JST, Nagoya 460-0012, Japan, ²Department of Biological Science and Institute for Advanced Research, Nagoya University, Nagoya 464-8602, Japan)

Movement, localization, and activation reactions of single receptor molecules and signaling molecules have been investigated in living cells. The major findings made by using single molecule techniques is that the activation period for each individual signaling molecule is usually shorter than a second, namely, activation of single signaling molecules occurs like a short pulse although signaling molecules collectively exhibit activation lasting over several minutes, a time course detected by using the bulk biochemical assays. It is concluded that the cellular signaling adopts digital signal transduction mechanism in the sense that each signaling event or the elementary step for each signal transduction step takes place like a transient pulse-like on-signal. Such a pulse-like activation is likely based on transient cooperative formation and disassembly of signaling complex or rafts in the cell membrane. To illustrate such digital signal transduction, I would like to present some of our recent findings. Crosslinked GPI-anchored receptor CD59 molecules form stable CD59-cluster rafts, which then occasionally form transient (0.7 s) signaling platforms in the cell membrane (which is anchored to the actin-based membrane skeleton) by the action of signaling molecules Gi and Lyn recruited for short periods (less than 0.3 s). PLC γ is transiently (0.4 s) recruited to the signaling rafts, which then produces IP3 to trigger calcium release from ER.

A. Kusumi : Digital signal transduction in the cell membrane as revealed by single molecule bionanotechnology