3P293

光合成反応中心および 古細菌・細菌・菌類オプシンの起源と進化

○石本 由夏¹、村山 佑介¹、斉藤 大允²、瓜生 耕一郎²、山崎 雅²、古市 尚高¹、大西 耕二^{1,2} (¹新潟大院・自然科学・生命食料、²新潟大・理・生物)

緑色植物/ラン菌型の光合成は、光エネルギー利用様式の一形態として、alpha-プロテオ細菌の紅色硫黄細菌 (*Rhodospseudomonas*) などにみられる光合成様式と起源を共有するものと考えられており、後者における反応中心構成蛋白 RC-M(M 鎖)、RC-L(L 鎖) は、前者の光合成中心 PSII の構成蛋白 PSII-D2、PSII-D1 などと相同で、光合成反応の要を担う蛋白質である。これらの分子の起源を、FASTA/BLAST 類似配列検索などを利用して局所相同域を Database より探し、それをもとにして厳密並列をおこない、それに基づいてさらに feedback 的に類似域を再検索することを繰り返し、さらに Harr-Plot 解析等による確認を踏まえて、矛盾を含まない形での相同蛋白を検索した。その結果、(1) RC-M と菌類 (*Leptosphaeria maculans* など) のオプシンとの相同並列、(2) それを基盤としての、RC-M/RC-L と、古細菌-細菌-菌類オプシンファミリーとの相同並列を得ることができたので、膜貫通域の相同関係の在り方などを含めて、その詳細を報告する。このことは、光合成反応中心 RC-M、RC-L の起源が、菌類 opsin や細菌・古細菌ロドプシンを含む他の光エネルギー利用蛋白と密接に関連して起源したことを結論付けているとともに、Mg(2+)-transporter などとの相同性をも示している。さらに、これらのオプシン遺伝子の起源が、poly-tRNA 学説における tRNA(Gly)-tRNA(Cys)-tRNA(Leu) 域との相同域を含み、*E. coli* などの Glycyl-tRNA synthetase alpha subunit の遺伝子 (GlyS) や C-type レクチン、逆転写酵素、動物オプシンなどとも違い相同関係をもつことの、生命初期進化における意義を論ずる。

Y.Ishimoto, Y.Murayama, D.Saito, K.Uriu, M.Yamazaki, N.Furuichi, K.Ohnishi : Origin and evolution of photosynthetic reaction center and archeal/bacterial/fungal opsins

3P295

X線照射時における1分子への力場の確認

○佐々木 裕次、奥村 泰章、宮崎 拓也 (SPRING-8/JASRI, JST/CREST 佐々木チーム)

X線を用いて多種類の1分子運動計測を行った結果、X線照射時において計測された分子に1方向の運動成分が検出された。計測された1方向の流れを持ったブラウン運動は、比較的固い分子では、その方向性は確認できないが、比較的柔らかい分子、例えばアンフォールド状態のポリペプチドや親水性蛋白質分子などでは顕著であった。今まで可視光を用いた光ピンセットやエバネセント減衰波内の放射圧に関しては多くの研究がなされてきたが、物質系に対して光の吸収効果が少ないX線領域で、その放射圧が確認されたことはなかった。今回の現象は、非常に高感度なX線1分子計測法を用いたことにより初めて確認された現象である。ここで用いられたX線1分子計測法 (Diffracted X-ray Tracking :DXT) の特徴は、1分子内の構造変化及び分子内揺らぎを実時間で、かつ $\sim$ p mの精度で計測できる点にある。直径数十nm程度のナノ結晶を生体分子にその機能を損なわないように特定の部位に標識し、そのナノ結晶からのラウエ斑点を指標に、着目した生体分子の動きを時分割トレースする。DXTにおいて、検出しているのは1分子内の計測したい部位に標識された1つのナノ結晶の運動である。従って、X線照射時に発生した力は、吸収効果から考えて、計測分子に影響しているというよりも、標識したナノ結晶に影響し、その後分子のブラウン運動にその影響が現れると考えられる。取り扱ったのは、アンフォールドされた蛋白質分子、アクチン繊維、そしてDNA分子等である。すべての分子は、金薄膜基板に表面吸着され、その反対側の末端に直径20-30nmの金ナノ結晶が標識されている。上記実験は、大型放射光施設SPRING-8(BL-44B2)で行なった。数ミリ秒のX線パルスを用いて1秒間 (ビデオレイト) の連続計測を行った。測定温度は5度に設定してすべての実験を行なった。

Y.C.Sasaki, T.Miyazaki, Y.Okumura : Force Field of Individual Protein Molecules Under X-ray Radiation

3P294

主座標分析法に基づくスイレ目位置付けについて

○瓜生 耕一郎¹、須永 亮¹、合田 正毅²、大西 耕二^{1,2} (¹新潟大・理・生物、²新潟大院・自然科学)

RUBISCO rbcL 遺伝子の比較による維管束植物の系統樹構築 (Soltis, et al.,1999) では、被子植物系統に於て、スイレ目が早期に分岐したことを示唆するトポロジーが示され、形態学的知見との相違を巡る論争がある。そこでこれらの rbcL アミノ酸 (aa) 配列比較から、配列 i と j の間の偶然による aa 置換数の推定値 (Kaa) を進化的距離として求め、その平方根 ($\sqrt{Kaa}$) が、対応する2標本点間の (擬)euclid 距離 d(ij) に等しくなるように主座標分析を行い、n(=21) 個の標本点を n-1(=20) 次元 (擬)euclid 空間 E(n-1) に mapping した。これにより、aa 配列の進化過程を、E(n-1) における標本点の random walk による運動過程とみなせる。なぜなら、(擬)euclid 距離 d(ij) の平方 (=Kaa) は、i から j に至る場合の random-walk 歩数の期待値に等しい故である。21 種の維管束植物 rbcL を、このように E(20) に mapping し、最大分散を含む3次元空間に表示した結果、*Ceratophyllum* (スイレ目) はその他の被子植物群から大きく離れて位置するが、被子植物 cluster と裸子植物 cluster の中間方向に位置するのではなく、被子植物 cluster から見て、裸子植物 cluster と反対方向に離れて位置する。このことは、スイレ目とその他の被子植物群の間の大きな配列相違度が、スイレ目の原始性の現れではなく、スイレ目分枝における多くの変異蓄積による「特殊化」の結果であることを強く示唆した。特定分枝の枝長が極端に長い場合、通常の系統樹構築法によるクラスタリングの結果では、根元近くでの分枝のトポロジーが得られがちと考えられ、主座標分析は、その幾何学的位置関係から、分枝トポロジーのみでは得られない重要情報を提供し得ると考えられ、本研究結果はその有効利用の一例である。また、E(n-1) における random-walk の性質から得られる新知見も報告する (Ohnishi et al., Proc.AROB, 2004)。

K.Uriu, R.Sunaga, M.Goda, K.Ohnishi : Phylogenetic position of Nymphaeaceae, elucidated by principal coordinate analysis

3P296

光吸収による蛋白質1分子の構造揺らぎと機能活性

○奥村 泰章^{1,2}、宮崎 拓也^{1,2}、佐々木 裕次^{1,2} (¹JST/CREST(佐々木チーム)、²SPRING-8/JASRI)

本研究では、光を吸収した生体分子から放出される熱エネルギーと、その熱エネルギーによる生体分子活性の影響について研究を進めている。あらゆる生体分子は、その分子構造、構成アミノ酸等により、それぞれ異なる光吸収領域を有する。例えば、多くの生体分子は特定アミノ酸 (Tyr, Trp) に由来する 280 nm 付近に光吸収帯を有し、この波長領域において吸収された光エネルギーのほとんどは、無輻射遷移により熱エネルギーとして放出されることが知られている。このとき放出された熱エネルギーは生体分子の構造揺らぎ、更には機能活性に大きく影響する可能性が示唆される。そこで、我々はX線1分子計測法 (Diffracted X-ray Tracking: DXT) を用い、光照射による目的タンパク質分子の分子揺らぎ計測を試みた。DXT とは、蛋白質1分子の極めて微小な分子内構造変化をリアルタイム計測可能にする手法である。本研究で用いた蛋白質は、Green Fluorescent Protein (GFP)、及びシャペロン蛋白質として知られる GroEL である。DXT 実験の結果、これら蛋白質1分子は、280nmの光照射後、ブラウン運動とは明らかに異なる特異な分子振動を示した。更にこの振動は、これら蛋白質自身により放出された熱エネルギーに由来することが最近の研究で明らかとなった。つまり、この現象は各種生体分子が有する光吸収領域や吸収量を、その分子構造、アミノ酸配列、更には非天然アミノ酸の導入により操作し、光を用いて (人工) 生体分子表面環境の温度をコントロールすることにより、その機能活性を制御できる可能性を有する。本報告では、生体分子の光励起後のエネルギーの流れ、及び生体分子が放出した熱エネルギーが、よりマクロな生命現象に与える影響とその可能性についても詳しく報告する。

Y.Okumura, T. Miyazaki, Y.C.Sasaki : Single bio-molecular fluctuations and molecular activities due to light absorption