1PA077

ヒドラのグルタチオン化学受容行動の自己相関解析

○花井一光、柴原章宏・岩崎遼・佐々木和男（京都府立医科大学・物理、富山大・工・電子情報）

淡水産腔腸動物ヒドラは還元型グルタチオンを受容して、摂食応答を起こすが、あらかじめ希薄なトリプシン溶液で処理して（100 pg/ml, 10 min）おくと、グルタチオンを受容して、触手球形形成応答を起こすようになる。本研究ではコンピュータによる画像解析を導入して、この反応を自動的に客観的に判定するようなシステムを構築しようという目的の一環である。

ヒドラの画像を白黒 CCD カメラで2秒ごとにコンピュータに取り込み、それを解析することによって、各時刻で、周囲長、面積、重心2次モーメント、円型度、触手長、輪郭のフラクタルディメンションなどいくつかの画像パラメータを得る。

こうして得られた画像特徴量は、各時刻で、一見まったくランダムに変化する。しかし、全く乱数から発生させたデータと比較してみると随分様子が異なることにも気付く（図）。画像特徴量はヒドラのグルタチオン行動応答の結果として生ずるものであるが、これは、結局はヒドラがグルタチオン刺激を受容して、その受容器-効果器システム（感覚-運動出力系）の活動の結果によるものが大きいと考えられる。そこで、グルタチオン刺激後5分から10分の間は定常的であると仮定して、自己相関解析を試みた。非常にたくさん（各点10000以上）のデータの平均についてみると、自己相関は非常に複雑に変化した。これはこの自己相関を決める感覚-運動出力系が、ヒドラのような単純な動物といえども、溶液中の粒子がブラウン運動するというモデルなどとは比較にならないほど複雑なためであろう。

図 ヒドラのグルタチオン応答に伴う画像特徴量周囲長の変化（上）ヒドラの反応に伴う変化、（下）乱数で発生させたデータによるもの

K. Hanai, A. Shibahara, Y. Iwasaki, K. Sasaki: The autocorrelation analysis of the image parameters in the glutathione-induced behavior of Hydra

1PA078

真性粘菌変形体のフラグメンテーションにおける記憶現象

○斉藤健太、上田哲男（北大・電子研）

真性粘菌(*Physarum polycephalum*)の変形体は多核のアメーバ様細胞で通常、細胞分裂することなく巨大化する。しかし、変形体は低温下で大き

さのそろった小変形体に分裂する(Kakiuchi & Ueda, 1999, A)。ここでは変動する環境場での応答を調べる。

結果:

- (1) 分裂は連続低温下5 hで起こる(B)。
- (2) 低温4 h目で、高温にし続けると分裂しない(C)。
- (3) (2)で高温後2 h後に低温に戻ると、その後約2 hと早い時期に分裂する(D)。

以上のことから変形体は低温に置かれた事を記憶していることがわかる。

K. Saito, T. Ueda: Memory in the plasmodial fragmentation by the true slime mold *Physarum polycephalum*.

1PA079

細菌走化性レセプターとメチル基転移酵素の相互作用とその適応における役割

○塩見大輔、降旗達也、佐藤健、本間道夫、川岸郁朗（名大・院・理・生命理学）

多くの感覚応答系において、一定の刺激が持続するとその刺激に反応しなくなるという現象（適応）がみられる。大腸菌走化性においても適応は必須である。適応は、細胞膜上のレセプターがメチル基転移酵素CheRによる可逆的なメチル化修飾を受けることにより起こる。ところが、レセプターは菌体あたり約5,000分子存在するのに、CheRは数百分子しかない。このような分子数の違いにも関わらず、どのようにして効率よくメチル化が起こるのだろうか。最近、CheRがレセプターのメチル化部位から離れたC末端配列NWETFに結合することが明らかにされてきた。私たちは、この結合の生理的意義を追求することで適応の分子機構に迫ろうとしている。これまでに、アスパラギン酸レセプターTar (553 アミノ酸残基) を用いて、この配列を欠失させると適応能が低下すること、系統的な変異導入では5残基のうちWを変異させたとき最も適応能の低下が大きいことを示している。本研究では、以下のような解析を行った。

NWETF配列を含むTarのC末端フラグメント（メチル化部位、シグナル産生部位などは含まない）を、野生株中で発現させると、適応能が阻害された。一方、W550A変異フラグメントを発現させても阻害は起こらなかった。さらに、野生型フラグメントによる適応能の低下は、CheR大量発現により抑圧された。これらの結果は、(1) フラグメントのNWETF配列にCheRが奪われて適応能を失ったこと、(2) TarのW550残基がCheRとの結合に重要であることを示唆している。現在、フラグメントとCheRの結合について直接調べている。

また、適応能の低下したW550A変異Tarを発現する菌から、軟寒天培地上でのがり（スウォーム-走化性の指標）の回復した復帰変異株（60株）を単離した。それらのうち、6つがtar遺伝子内に抑圧変異が生じていた。これら6つの遺伝子内抑圧変異は、2クラスに分けられた。クラスI変異は、アスパラギン酸存在下でメチル化は進行しないが軟寒天培地上で広がった。これは適応能は回復しないが、シグナルバイアスが増加したためと考えられた。クラスII変異は、アスパラギン酸存在下でメチル化レベルが野生型レベルにまで回復した。これはCheRとの親和性が回復したためと考えられた。今後これらの抑圧変異の機構についても詳細に解析する予定である。

D. Shiomi, T. Furihata, K. Sato, M. Homma, I. Kawagishi: Interaction between the bacterial chemoreceptor Tar and the methyltransferase CheR and its role in chemotactic adaptation

1PA080

大腸菌化学感覚レセプターによる細胞内 pH 認識機構

○梅村 徹¹、松本裕美¹、大西浩平²、本間道夫¹、川岸郁朗¹（¹名古屋大・理・生命理、²海洋バイオ研・金石研）

膜貫通型レセプターが細胞外の刺激を受容し、細胞内へと伝えるメカニズムを解明することは、現在の生物学の大きな課題の一つである。大腸菌化学感覚レセプターは、この点に関して最も解析の進んでいるものの一つである。このレセプターは、リガンドの有無に関わらず2量体を形成しているため、その情報伝達も2量体内の構造変化によるはずである。すでに当研究室では、細胞外ドメインと細胞内ドメインを繋ぐ膜貫通領域が、情報伝達に際してほとんど動かないことを示している。この小さな動きが、細胞内における何らかの構造変化を引き起こすと考えられる。しかし、現在までのところ、三次元構造も解かれておらずこの点に関する情報は少ない。この細胞質でのシグナル産生制御に関する知見を得るため、我々は、次のような興味深い性質に着目した。互いに相同なレセプター Tar と Tsr は、共に細胞内 pH (pHi) センサーとしても働く。ところが、同じ pHi 変化に対して出力の方向が全く逆になる。すなわち、細胞内 pH 低下を、Tar は誘引刺激として、Tsr は忌避刺激として認識する。本研究では、Tar と Tsr の pHi センサーとしての性質の違いをもたらし残基を特定した。Krikos ら (1985) は、Tar と Tsr のキメラを作成し、レセプターの細胞質側に pHi 変化感知領域があると推定した。我々は、さらに多数のキメラレセプターを作成し、それらを発現する菌の pHi 低下に対する応答を観察した。その結果、Tar では 23 残基、Tsr では 54 残基内にまで pHi 変化感知領域をせばめた。ここで、Tar の 23 残基と Tsr の相当領域のアミノ酸配列で側鎖の電荷が逆の 3 箇所に着目し、Tar 上で電荷を逆転させた変異体を作成した。すると、Tar-R259G/S260E は Tsr と同様に pHi 低下を忌避刺激として認識し、Tar-D263R と Tar-H267D はどちらも pHi 低下に対してわずかに誘引応答を示した。このことから、Tar では R259/S260、D263、H267 (Tsr では G261/E262, R265, D269) の残基のうち R259 が決定的な役割を果たしている可能性が高いことが示唆された。この残基は適応に際して可逆的なメチル化を受ける部位を含むヘリックス領域 (MH) の N 末端側にある。MH 間相互作用の重要性は、メチル化によるシグナル産生能の調節や温度受容性の調節においても示唆されている。pHi 応答においても、MH 間相互作用の変化によってシグナル産生が制御されているのかもしれない。

T. Umemura, Y. Matsumoto, K. Oonishi, M. Homma and I. Kawagishi: Intracellular pH sensing by the *Escherichia coli* chemoreceptors.