1I1130

ゲノム情報の統計的解析-DNA塩基配列に見られる長距離相関-

○福島 敦史¹、木内 誠²、工藤 喜弘²、金谷 重彦² (¹山形大・院理工、²山形大・工)

ゲノムの高次構造を理解するために、完全配列が決定しているバクテリアゲノム約30種に対しG+C含量に着目して統計的解析を行なった。その結果、解析を行なったバクテリア種のすべてで、以下のことがわかった。(1)バクテリアゲノムにはゲノム全長にわたる長距離相関が存在している(右図)。これはゲノム上で遠く離れた塩基の出現が独立でないことを示している。(2)G+C含量の確率分布はサンプリング幅が増加するとともに分布の裾野が顕著にずれ

図. sampling 長さ L に対する G+C の個数の分散

なる。これはランダムな事象の重ね合わせが中心極限定理によりガウス分布に漸近するのとは異なり、ゲノムはランダムではないことを示す。また、確率分布の形は数種類に分類できる。本研究の解析結果は、イントロンの無いバクテリアゲノムが繰り返し配列の多数存在するヒトゲノムとは構造自体が異なっているのと同様に、長距離相関においてもその起源が異なっていることを示唆している。生物学的知見を考慮し長距離相関の生物学的意義とDNA分子のフォールディングや高次の染色体構造と結びつけたその機能について考察する。

A.Fukushima, M.Kinouchi, Y.Kudo, S.Kanaya : Statistical Analysis of Genomic Information -Long-Range Correlation in DNA Sequences-

1I1315

キネシン・微小管結合様式の1分子顕微解析

○上村 想太郎、川口 憲治、石渡 信一(早大・理工・物理)

キネシンは、2つのheadを交互に微小管と結合させながら+端へと「歩く」物質輸送モータータンパク質である。歩行運動メカニズムを解明するためには、キネシンがどのような条件で微小管と単頭結合、双頭結合、のいずれの結合様式をとるかを詳細に調べる必要がある。我々は、直径1μmのポリスチレンビーズに1分子のキネシン(牛脳)を吸着させ、レーザートラップで捕捉したビーズを微小管に沿って一定速度で移動させることで、結合したキネシンに負荷を徐々に加えていき、破断力を繰り返し測定した。その結果、破断した瞬間における結合様式を区別することができた。AMP-PNP 1mMでは単頭・双頭結合の平衡状態にあり、トラップの移動速度(負荷上昇速度)に応じて結合様式の割合が変化した。この結合様式の変換機構を明らかにするために、単頭・双頭結合間の平衡と解離を考慮したキネシン1分子の(負荷依存性)結合・解離モデルを作った。また、ADP 1mMでも破断が見られ、そのピークは3pN程度と非常に小さい値となった。この結果は、ADPキネシンは微小管と単頭でしかも、弱く結合していることを意味している。

S.Uemura, K.Kawaguchi and S.Ishiwata : Microscopic analysis of binding mode of single kinesin molecules with microtubule

1I1145

ホヤの情報機能分子の発現調節部位の検索とそれを利用した情報機能分子の可視化の試み

○岩佐 達郎、渡利 綾子、三島 幸子、津田 基之(姫路工大・理・生命科学)

ホヤ幼生を用いて、生体内の情報伝達に重要な役割を果たしているG蛋白質の発現様式と発現調節領域について調べた。これまでに、マボヤ幼生から5種類のG蛋白質αサブユニット遺伝子をクローニングしてきたが、本研究ではHrGnと名付けた新規なG蛋白質に注目した。我々は、このHrGn遺伝子の発現調節領域を得ることを目的に、マボヤのゲノムライブラリーをスクリーニングし、HrGn遺伝子の上流約6.0kbpを含むクローンを得、この全配列を明らかにした。さらに、得られた5'上流配列3.5kbpにGFPのコーディング領域をつないだ融合遺伝子を作製し、これを顕微注入によってマボヤ卵に導入した。その結果、幼生の間充織・尾部筋肉等にGFPに由来する蛍光が認められた。これらの部位はin situ ハイブリダイゼーションの結果にはば対応していた。上流域を欠いたGFP融合遺伝子導入の結果、及び、融合遺伝子と同時に注入した色素(Fast Green)由来の蛍光との比較から、上流3.5kbpの配列はHrGnの発現調節領域を含んでいるものと結論された。さらに発現調節領域の特定のため、サイズの異なる上流配列をGFPにつなぎ、遺伝子導入した結果、少なくとも上流800bpには、発現調節領域はないと思われる結果が得られた。また、このGFP融合遺伝子をカタウレイボヤ受精卵にエレクトロポレーションで導入したところ、マボヤとは同じ部位にGFPの発現が見られた。これらの結果から、この発現調節領域はカタウレイボヤでも同様に機能することが示された。現在、この発現調節領域の下流にGFP-HrGn融合タンパク質を発現させるベクターを作製し、HrGn分子をホヤ生体中で可視化することを試みている。(※現所属：室蘭工大・材料物性工学・生体分子科学)

T.Iwasa, A.Watari, S.Mishima, M.Tsuda : A regulatory sequence of HrGn, a novel G protein alpha subunit gene in the ascidian embryo, and its application for imaging of G protein.

1I1330

キネシン・微小管結合の寿命とその負荷依存性

○瀬尾 隆造、石渡 信一(早大・理工・物理)

我々はこれまで、アクチン-ミオシン(単頭及び双頭)単一硬直結合の結合寿命とその負荷依存性を測定してきた(T. Nishizaka, R. Seo, H. Tadakuma, K. Kinoshita, Jr. and S. Ishiwata, *Biophys. J.* 79(2), in press (2000)). 今回、キネシン-微小管系においても同様の測定を行ったので報告する。キネシンは、2つの頭部を交互に微小管と結合しながら+端へと「歩く」物質輸送モーターだが、アクチン-ミオシン系と比べて1分子計測が容易である。キネシンを結合した直径1μmのポリスチレンビーズを光ピンセットで捕捉することにより、瞬時に(ビデオレート内に)一定の負荷を加え、結合の寿命を1分子ごとに計測した(下図A; 2つの矢印の間の時間を計測)。こうしていくつかの分子についてデータを集めた(下図B; 図の点線上のデータは負荷を加えてから100秒以内には結合が解離しなかったものを表す)。下図は、ATPアナログであるAMP-PNP 1mM存在下で行った予備実験の結果である。無負荷時の結合寿命が1000秒と報告されているAMP-PNP存在下で、10pNの負荷を加えたところ結合寿命が1秒以下になることがわかった。このようなデータから結合の相互作用距離などを見積もることが出来る。硬直条件の結果と併せて報告したい。

R. Seo and S. Ishiwata : Lifetime and its Load dependence of kinesin-microtubule complex