1P129

大腸菌がしめす転写調節制御がない条件下での遺伝子発現の栄養補償的な応答

○鈴木 誉保¹、柏木 明子²、卜部 格¹、四方 哲也^{1,2,3,4} (¹阪大院・工、²阪大院・情報、³阪大院・生命機能、⁴ERATO, JST)

‘Compensatory’ gene expressions are thought to be critical in accommodation for new environments. Indeed, bacterial adaptation for environments is achieved through highly well-tuned regulatory mechanisms, particularly transcriptional regulatory networks. Previous studies have focused on living organism as such a set of sophisticated devices, but not as primitive and roughly machines. Here, we used null-operator glutamine synthetase (GS) expression measurements from living cell cultures, bearing GFP reporters, to observe how to respond to transitions between rich and poor glutamine conditions. We found GS expression level correlate with glutamine concentrations, such that cells show higher expression level at poor medium and lower expression level at rich medium. This result indicates that even under no operator regulation, gene expression level can be changed in response to nutritional conditions. How this property would be effective in physiological as well as evolutionary views is discussed.

T. Suzuki, A. Kashiwagi, I. Urabe and T. Yomo : Compensatory Responses of Null-operator Gene Expression to Nutritional Changes in *Escherichia coli*

1P131

二枚貝閉殻筋のトウィッチンはリン酸化状態によらずミオシンMg-ATPase活性のCa²⁺依存性を変化させない

○山田 章、吉雄 麻喜、大岩 和弘 (情報通信研・関西・生体物性)

二枚貝キャッチ筋では、軽鎖にCa²⁺が結合することによってミオシンが活性化され、収縮が起こる。低Ca²⁺濃度においては、ミオシンの活性は低く抑えられ、このときにミオシンに結合したトウィッチンが脱リン酸化されているとアクチン、ミオシン両フィラメント間に強い結合を生じ(キャッチ状態)、リン酸化されていると結合を生じない(弛緩状態)。キャッチ状態の結合の実態はまだ不明な点が多いが、脱リン酸化状態のトウィッチンが、ミオシン頭部のアクチンに対する親和性を高めているとする仮説がある。そうであるとなると、アクチン非存在下においても、脱リン酸化状態のトウィッチンはミオシン頭部に何らかの変化を与えていると考えられる。また、二枚貝のミオシンは、アクチン非存在下においてもCa²⁺によってMg-ATPaseが活性化される。そこで、アクチン非存在下でのミオシンのMg-ATPase活性のCa²⁺濃度依存性を、トウィッチン非存在下、リン酸化したトウィッチン存在下、脱リン酸化したトウィッチン存在下で、詳細に比較検討した。我々は、マガキ閉殻筋の平滑筋部分だけでなく斜紋筋部分から精製したミオシンとトウィッチンでもキャッチ状態を再現できることを示している。斜紋筋ミオシンのMg-ATPase活性は平滑筋のものの約10倍と高いので、斜紋筋のミオシンとトウィッチンを使用した。その結果、アクチン非存在下でのMg-ATPase活性のCa²⁺濃度依存性は、トウィッチンの有無やリン酸化状態によらなかった。また、低Ca²⁺濃度下では、脱リン酸化したトウィッチンの存在下(キャッチ状態)のみにおいて、アクチンによってMg-ATPaseが活性化される。これらのことから、脱リン酸化されたトウィッチンはミオシン頭部には直接の変化を与えず、フィラメント間の相互作用を強くし、その結果としてMg-ATPaseが活性化されるという可能性も考えられる。

A.Yamada, M.Yoshio and K.Oiwa : The phosphorylation state of twitchin does not affect on the Ca²⁺-dependency of myosin Mg-ATPase activity of bivalve adductor muscle.

1P130

コイ普通筋(速筋)および血合筋(遅筋)ミオシンの生化学的性質について

○岡垣 壮、高見 将樹、細川 喜代、矢野 美幸、藤目 杉江、大井 淳史 (三重大・生物資源)

ほ乳類の骨格筋では多くの場合速筋と遅筋が混在している。それに対し魚類では速筋である普通筋が骨格筋の大部分を占め、遅筋である血合筋は側線直下に集中して分布しており、その分布はほ乳類とは大きく異なっている。ATPase活性測定およびモーターリテーターアッセイによってコイ普通ミオシン及び血合ミオシンの活性を比較したところ、普通ミオシンのATPase活性および滑り速度は血合ミオシンのそれらに対し1.6および1.5倍であった。普通ミオシンの活性はほ乳類速筋ミオシンと同程度なのに対し、血合ミオシンの活性は遅筋ミオシンの約2倍だった。魚類では普通筋は急激な激しい運動以外には使用されず、通常のゆっくりとした遊泳においては血合筋のみが活動していることが知られているので、血合ミオシンの活性が高いことは生理機能を反映していると考えられる。さらに普通ミオシンの方が血合ミオシンよりもF-アクチンに対する親和性が高かった。このことはそれぞれのミオシンから調製したHMMあるいはS-1とF-アクチンとの結合実験からも確認できた。また電子顕微鏡観察および遠心実験によると、普通ミオシンの線維形成能は血合ミオシンのそれよりもずっと低かった。それぞれのミオシンからロッドを調製して重合させた場合にも同様な結果が得られたことから、これらのミオシンでは線維形成の際のロッド部分のside-by-sideの結合力に差があることが確認できた。この線維形成能の相違は魚類特異的な何らかの生理機能を反映しているのかもしれない。

T. Okagaki, M. takami, K. Hosokawa, M. Yano, S. Higashi-Fujime, and A. Ooi : Biochemical properties of ordinary and dark myosins from carp skeletal muscle.

1P132

ホッキ貝柱と牽引筋のCa制御機構

○矢沢 洋一 (北教大旭川校・健康福祉)

Intorduction. Ca regulation of molluscan actomyosin ATPase is known to be associated with the nyosin molecule. We prepared natural actomyosin (NAM) from 26 kinds of molluscan muscles(21 species) and investigated the Ca regulation tyoes.

The Ca regulation of molluscs was classified into two types, myosin-linked system and dual regulation system (myosin and actin-linked). There were two kinds of regulation in the dual regulation system. One showed the elevation of Ca-sensitivity of myosin-linked ATPase activity (19 species), the other showed the decrease of Ca-sensitivity (2 species, Hokki and Mirukuigai clams). In this study, we tried to elucidate to the mechanism,

Materials. We prepared natural actomyosin (NAM), myosin (M), actin(A) and tropomyosin (M) from Hokki clam (*Spisula sachalinensis*) retractor muscle.

Result. Ca sesitivity of Hokki clam retractor muscle NAM was 42.9% and that of actomyosin (AM) reconstituted of M and A showed 83.1%. When TM was added to AM and the Ca sensitivity was de-ceased to 59% compared with that of AM. We concluded that Hokki clam TM takes part in the Ca regulation of retractor muscle contraction.

These results obtained in this study is the first report about the new function of tropomyosin (TM).

Y.Yazawa : New Ca regulation mechanism of invertebrate (Hokki clam) muscle contraction