

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

蛋白質・核酸・酵素 (1997) 42(1):64-72.

蛍光標識ヌクレオチド 蛋白質の構造と機能の研究への活用

平塚寿章

蛍光標識ヌクレオチド

——蛋白質の構造と機能の研究への活用——

平塚寿章

ヌクレオチド本来の生物活性を損なうことなく、分子の一部に有用な蛍光団が標識されているヌクレオチドを活用すると、蛋白質の構造と機能に関するさまざまな情報が得られる。この10年間で報告された応用例を蛋白質ごとにまとめ、蛍光標識ヌクレオチドの活用方法について解説した。

Key words 【蛍光標識ヌクレオチド】【ヌクレオチド結合蛋白質】
【蛋白質の構造と機能】

はじめに ヌクレオチドは細胞内代謝において、エネルギーの運び屋ともいえる中心的役割を果たしている。ヌクレオチドが関与するエネルギー転移のうちで最もなじみが深いのは、ATPやGTPに代表されるヌクレオシド三リン酸(NTP)の高エネルギーリン酸結合が関与する過程である。高エネルギーリン酸結合の加水分解で遊離されたエネルギーは、さまざまな代謝過程を駆動するのに使われる。一方、NTPとは別のグループのヌクレオチドである3',5'-環状ヌクレオチドをみると、とりわけcAMPやcGMPがホルモン応答や光受容に関連した情報伝達系で重要な役割を担っている。

酵素がATPを加水分解する反応(ATPase反応)で得られた化学エネルギーは、ミオシン、ダイニン、キネシンなどのモーター蛋白質が関与する生体運動、イオンポンプに代表される能動輸送、そしてDNAの複製やRNAの転写などの生体高分子生合成系に利用される。一方、GTPase反応で得られた化学エネルギーは、ホルモン応答や光受容などの情報伝達系、蛋白質生合成系、そして微小管などの細胞骨格形成などに不可欠である。このようにNTPのなかでも、ATPとGTPはとりわけ重要な生物活性物質で、生物が生きていくのに欠かせないさまざまな生体反応に関与している。

ヌクレオチド本来の生物活性を損なうことなく分子の一部に有用な蛍光物質(蛍光団)を標識することができれば、ヌクレオチドに標識されている蛍光団がレポーターとなり、ヌクレオチドが関与する生体反応に

おけるさまざまな情報を、蛍光特性の変化という形でリアルタイムで伝えてくれる。筆者が開発したTNP^{*1}-ヌクレオチド、Ant^{*2}-ヌクレオチド、そしてMant^{*3}-ヌクレオチド(表1)は、まさにこのような目的に使える蛍光標識ヌクレオチドである。

最近になってこれらの蛍光標識ヌクレオチドがさまざまな蛋白質や酵素の研究に使われるようになり、天然のヌクレオチドを使っては得られない有用な情報が得られている。筆者の手にある文献を数えただけでも、その数は現在までに優に260をこえ、この数字は半年ごとに20以上も増え続けている。これに伴い、筆者のところにも使用方法や応用文献に関する問合せが多数寄せられるようになった。

そこで本稿では1985年から現在までの応用例を、蛋白質や酵素別に最後に文献にまとめた。しかし、これは筆者が知り得たものだけなので、これ以外にも応用例はあると思われる。1984年までの応用例については、他の総説¹⁻⁴⁾に順を追ってまとめられている。使われている蛍光標識ヌクレオチドの構造や蛍光特性については表1にまとめられているが、さらに詳細を知りたいければ他の総説¹⁻⁴⁾やTNP-ヌクレオチドに関する原著論文⁷⁻¹²⁾およびAnt-ヌクレオチドとMant-ヌクレオチドに関する原著論文¹³⁻¹⁶⁾を参照していただきたい。誌面の制限もあるので一部の文献だけを取り上げて、蛍光標識ヌクレオチドを使うとどのような情報が得られるのかを解説したい。

Toshiaki Hiratsuka, 旭川医科大学医学部化学教室(〒078 北海道旭川市西神楽4線5号3-11) [Department of Chemistry, Asahikawa Medical College, Nishikagura, Asahikawa, Hokkaido 078, Japan]

Fluorescent Nucleotides: Their Applications for Studies on the Structure and Function of Proteins

表 1 蛍光標識ヌクレオチドの構造と蛍光特性

名称	構造 ^{a)}	蛍光特性 ^{b)}
TNP-ヌクレオチド		$\lambda_{ex}=408\text{ nm}$ 470 nm $\lambda_{em}=560\text{ nm}$ ((W), $\phi=0.0002$) $\lambda_{em}=540\text{ nm}$ ((S), $\phi=0.01$) $\lambda_{em}=530\text{ nm}$ ((F), $\phi=0.015$)
Ant-ヌクレオチド (構造: R = H) Mant-ヌクレオチド (構造: R = CH ₃)		Ant-ヌクレオチド $\lambda_{ex}=332\text{ nm}$ $\lambda_{em}=428\text{ nm}$ ((W), $\phi=0.14$) $\lambda_{em}=417\text{ nm}$ ((E), $\phi=0.65$) $\lambda_{em}=410\text{ nm}$ ((F), $\phi=0.86$) Mant-ヌクレオチド $\lambda_{ex}=356\text{ nm}$ $\lambda_{em}=446\text{ nm}$ ((W), $\phi=0.22$) $\lambda_{em}=432\text{ nm}$ ((E), $\phi=0.69$) $\lambda_{em}=427\text{ nm}$ ((F), $\phi=0.85$)

a) ATP と GTP の Ant および Mant 標識物は 3'-O-誘導体のみ示してある。b) ϕ は蛍光量子収率を表わす。W: 水, E: エタノール, S: ジメチルスルホキシド, F: ジメチルホルムアミド。

I. 蛍光標識ヌクレオチドの特徴

蛍光発光は、分子の受ける構造変化や分子がおかれている環境などの変化の影響を受けやすいので、蛍光標識ヌクレオチドが出す蛍光シグナルを測定すると蛋白質とヌクレオチドの相互作用を感度よく追跡できる。理想的な蛍光標識ヌクレオチドとは、標識後もヌクレオチド本来の生物活性がかなり残っていて、さまざまな生体反応系で天然のヌクレオチドとほとんど区別されずに利用され、蛋白質との相互作用に関する情報を蛍光特性の変化として高感度で伝えてくれるものをいう。そのデザインは簡単ではない。目的に合った蛍光

団を選んで蛍光標識ヌクレオチドをデザインする方法については他の総説¹⁻⁶⁾に詳しく述べられている。

蛍光標識ヌクレオチドを使う方法の長所をまとめると以下になるだろう。①生体系を生かしたまま実行できるので、細胞などを使っても実験が可能なこと、②リアルタイムの測定が可能なこと、③放射性元素を目印に使う標識法と異なって特別な施設や資格者を必要とせず、実験終了後の廃棄物の処理の問題もほとんど起きないこと、④検出感度が非常に高いこと(これは、日中のホテルよりも暗闇で光っているホテルのほうがより見つけやすいことを思うと容易に理解される)。

*1 2',3'-O-(2,4,6-トリニトロシクロヘキサジエニリデン)基。

*2 アントラニロイル基。

*3 N-メチルアントラニロイル基。

II. 蛍光標識ヌクレオチドを使うと何ができるのか

さまざまな蛋白質や酵素の研究に蛍光標識ヌクレオチドを使うと、天然のヌクレオチドを使ったのでは得られない多様な情報が得られる。以下、各蛍光標識ヌクレオチドについて、注目すべき応用例を紹介しながら解説したい。

1. TNP-ヌクレオチド

TNP-ヌクレオチドは400~500nmに吸収帯をもち赤橙色をしている⁷⁾。これに着目するとTNP-ヌクレオチドを色素標識ヌクレオチドとしても利用でき、差吸収スペクトル法などを使うと蛋白質との相互作用に関する情報が得られる。この吸収帯が他の蛍光団から出された蛍光スペクトルと重なれば、蛍光エネルギー移動法により、その蛍光団と蛋白質に結合しているTNP-ヌクレオチドの距離を測定できる。またTNP-ヌクレオチドの530~560nmの蛍光は、水溶液中では非常に弱いけれど、蛋白質に結合すると10~30倍にも増大するので、これを利用して蛋白質や酵素のヌクレオチド結合部位の数や結合の強さを簡単に知ることができ¹⁰⁾。

A. ヌクレオチド結合部位とCa²⁺結合部位の距離の測定

TNP-ATPは、開発当初はミオシンATPaseの基質として使われた⁷⁾。他の蛋白質に応用されたのはCa²⁺-ATPaseが最初で、現在でもF₁-ATPaseとならんで最も応用例が多い。

Ca²⁺のアナログとして使われるTb³⁺は、480~600nmに蛍光を出す。この蛍光スペクトルはTNP-ATPの吸収スペクトルと重なる。Ca²⁺-ATPaseのCa²⁺結合部位に結合しているTb³⁺と触媒部位に結合しているTNP-ATP間で蛍光エネルギー移動が観察され、移動効率から計算すると両部位の距離は約35Åであった¹¹⁾。

B. ヌクレオチド結合部位とCys残基の距離の測定

葉緑体のF₁-ATPase (CF₁)を構成するサブユニットの1つであるβサブユニットは不規則な長い形をしており、N末端側に1個のCys残基(Cys63)をもっている。このCys残基を、TNP-ADPの吸収スペクトルと重なる蛍光スペクトルをもつピレンで標識し、蛍光エネルギー移動を測定した⁹⁾。その結果、両部位は遠く離れていてその距離は42Åであった。しかしこれほど離れているにもかかわらず、一方の部位で起きた構造変化が他の部位にも伝わるのがわかった。

C. ヌクレオチド結合能の検定

酵母のヘキソキナーゼのATP結合部位を含むと予想されるGlu78からLeu127までのペプチドを合成して、これとTNP-ヌクレオチドの結合を測定した¹²⁾。ペプ

チドにTNP-ATPが結合すると蛍光強度は5倍になった。これを利用すると、ペプチド1モルあたり0.8モルのTNP-ATPが4.4μMの解離定数で結合することがわかり、このペプチドは予想どおりATP結合部位を含むことが明らかになった。

上皮増殖因子(EGF)は受容体との結合によって受容体自体がチロシンキナーゼ活性を発現する。TNP-ATPは、この受容体蛋白質の組換え体の基質になり、そのK_mはATPを基質とした場合とほとんど変わらなかった¹²⁾。TNP-ATPの蛍光強度は結合すると9~17倍にも増大するので、これを利用して結合の強さを測定できた。

D. 非標識ヌクレオチドの結合の測定

蛋白質に結合すると蛍光強度が増大するというTNP-ヌクレオチドの性質を利用すると、TNP-ヌクレオチド自身の結合だけでなく天然の非標識ヌクレオチドの結合実験も可能になる。

CF₁のβサブユニットはTNP-ATPとTNP-ADPを結合し、TNP-ATPの蛍光強度は結合すると結合前の5倍になる。この複合体に天然の非標識ヌクレオチドを加えると、結合しているTNP-ATPを競争的に解離させるので蛍光の減少が起きる。この蛍光減少の効率はATP>GTP≈ITP>CTPの順となり、非標識ヌクレオチドの結合の強さも知ることができた¹³⁾。

E. 差吸収スペクトルを利用したヌクレオチド結合の測定

TNP-ヌクレオチドの蛍光スペクトルだけでなく可視部の吸収スペクトルもおかれている環境に依存して変化する^{7,8)}。これを利用すると、差吸収スペクトル法などを使ってTNP-ヌクレオチドと蛋白質の相互作用を研究できる。

TNP-ATPやTNP-ADPがF₁-ATPaseに結合すると特有の差吸収スペクトルが現われる。この酵素からαサブユニットとβサブユニットを単離して、同様にTNP-ヌクレオチドによる差吸収スペクトルを測定した。その結果、TNP-ヌクレオチドはF₁-ATPaseのβサブユニットに結合して吸収スペクトル変化を起こすことが明らかになった⁶⁾。

F. GTP結合蛋白質への応用

TNP-ATPの有用性が明らかになるにつれ、これに対応するGTP誘導体(TNP-GTP)の開発も試みられた。しかし、ATPと同じ標識法を使ったのでは塩基部分も標識されてしまうため、TNP-GTPはTNP-ATPより10年以上も遅れて登場した¹²⁾。TNP-GTPの分光学的特性はTNP-ATPとまったく変わらないので、TNP-ATPと同様に蛍光標識GTPとしての幅広い応用が期待できる。

TNP-GTPはGTPと同様、グルタミン酸脱水素酵素に結合して阻害剤として作用する。この酵素に結合

すると TNP-GTP の蛍光強度は 5.6 倍にも増大するので、いままでに述べた TNP-ATP の場合と同じように結合の強さや結合数を測定できた¹²⁾。また TNP-GTP はアデニル酸シクラーゼに対しても、GTP と同じように作用することがわかった¹³⁾。現在のところ、TNP-GTP の応用例はまだ少ないが、今後は他の GTP 関連酵素にも応用されるようになると思われる。

2. Ant-5'-ヌクレオチドと Mant-5'-ヌクレオチド

Ant および Mant-ヌクレオチドは TNP-ヌクレオチドと同じように、ベンゼン環 1 個を骨格とする蛍光団がヌクレオチドの糖部分に標識されている¹⁴⁾。糖部分に水酸基を 1 つもつヌクレオチドならば、塩基部分にはまったく無関係に Ant 基も Mant 基も標識できる¹⁵⁾。そのため cAMP や cGMP を標識することも可能である¹³⁾ (後述)。蛍光特性は TNP-ヌクレオチドとは異なり、水溶液中でも 430~450 nm の領域にかなり強い蛍光を出す。他方、蛋白質などに結合したときの蛍光強度の増加率は数倍程度で、TNP-ヌクレオチドに比べると小さい。

デオキシヌクレオチドや 3',5'-環状ヌクレオチドの標識物を除くと、Ant および Mant-ヌクレオチドは 2'-O-標識物と 3'-O-標識物が約 1:2 の比率でなる平衡混合物であることが知られている¹³⁰⁾。しかし、それぞれを単離してミオシン ATPase に使った結果では、3'-O-標識物を使って得られたデータは 2'-O-標識物を使って得られたものとほとんど違わなかった¹³⁹⁾。これはおそらく他の蛋白質や酵素を使った実験にもあてはまるものと思われる。しかし、より厳密なチェックを必要とする場合は、対応するデオキシヌクレオチドの蛍光標識物を使ったデータと比較するのがよい。

これらの蛍光標識ヌクレオチドの特徴は、糖部分に標識されている蛍光団の分子サイズが小さいためさまざまな生体反応で使用可能で、ほとんど元のヌクレオチドと同じような生物活性が残っていることである。これに加えて利用価値の高い蛍光特性をもつので、応用例はこの 10 年間で飛躍的に増加した。

A. モーター蛋白質の化学エネルギー源としての応用

ミオシンをはじめとして、ダイニン、キネシンなどのいわゆるモーター蛋白質は、ATP を加水分解して得た化学エネルギーを力学エネルギーに変換して滑り運動を起こす。

キネシンやダイニンの ATPase は基質特異性がきわめて厳密で、ATP 分子の構造を変えてしまうとほとんどの場合受け入れてくれない。しかし幸運なことに Ant-ATP や Mant-ATP は ATP の代わりとしてこれらのモーター蛋白質の化学エネルギー源として使えることがわかった^{147,148)}。さまざまなモーター蛋白質について、Ant-ATP や Mant-ATP が結合して加水分解されると

きに起きる蛍光変化を測定することにより、天然の ATP を使ったのではほとんど不可能な反応動力学的研究がつぎつぎと発表されている¹³⁹⁻¹⁵³⁾。

天然の ATP とほとんど同じくらいの生物活性が Mant-ATP に残っていることは、ミオシン ATPase を使った詳細な反応機構の研究から明らかになっている¹³⁹⁾。Mant-ATP が ATP と同じように筋肉を収縮させることはもちろん、ミオシン ATPase に対する結合や加水分解反応の各ステップで求められた反応定数を ATP で求められたものと比べても、大きく異なってもせいぜい 3 倍程度になるだけでほとんどは差がなかった。Mant-ATP を ATP の代わりに使うと、遺伝子工学的には少量しか得られないサンプルを節約して使っても多様な測定が可能になるので、Mant-ATP をモーター蛋白質の研究に使うことはいまでは常法になりつつある^{144,146,149-153)}。

B. Trp 残基とヌクレオチド結合部位間および 2 つのヌクレオチド結合部位間の距離の測定

Mant-ATP の 320~400 nm の吸収スペクトルは蛋白質の Trp 残基からの蛍光スペクトルと重なる。一方、Mant-ヌクレオチドによる 400~500 nm の蛍光スペクトルは TNP-ヌクレオチドの吸収スペクトルとよく重なる。もしも 2 つのヌクレオチド結合部位のそれぞれに Mant-ヌクレオチドと TNP-ヌクレオチドを結合できれば、Mant 基から TNP 基への蛍光エネルギー移動の測定によって両結合部位間の距離を求められる。同様にして、結合している Mant-ヌクレオチドの近くに Trp 残基があれば、これらの間の距離も知ることができる。

Mant-GDP は F₁-ATPase の触媒部位に選択的に結合し、結合すると蛍光強度は 2.2 倍に増大する。一方、TNP-ADP は非触媒部位に選択的に結合し、蛍光強度は 7 倍に増大する。このように 2 種類の蛍光標識ヌクレオチドが触媒部位と非触媒部位にそれぞれ結合した F₁-ATPase について蛍光エネルギー移動効率を測定すると、両部位が 17.5 Å しか離れていないことがわかった¹⁴⁴⁾。また、結合している Mant-GDP と Trp275 の距離も 10.5 Å という近さであった。

C. ATPase 活性の直接測定

酵素によっては、加水分解反応に伴って Mant-ATP などの蛍光が変化する場合がある。これを利用すると、ATPase 活性を蛍光法によって直接測定することができる。

ヘリカーゼは ATP を加水分解して得た化学エネルギーを用いて DNA のらせんを不安定化し、二重鎖 DNA を巻き戻す酵素である。Mant-ATP や Mant-dATP はこの酵素のよい基質になる。Mant-ヌクレオチドの加水分解反応に伴い蛋白質の構造変化が起きるので、Trp 残基の蛍光の強度変化を測定すると酵素活性を直

接測定できる。しかし、Trp 残基から Mant-ヌクレオチドへ転移したエネルギーによる Mant 基の蛍光を追跡するほうが、より高感度で ATPase 活性を直接測定することができた¹⁶¹⁾。

D. GTPase 活性の直接測定

Mant-GTP は、蛋白質合成におけるポリペプチド鎖延長因子 (EF-Tu) や腫瘍遺伝子産物の Ras 蛋白質などの研究に非常に多用されている。この理由は、Mant-ATP がモーター蛋白質の研究に多用されている理由とまったく同じで、Mant-GTP には GTP 本来の生物活性がほとんど元どおりに残っていることによる。たとえば EF-Tu¹⁶⁰⁾ や Ras 蛋白質¹⁶⁰⁾ についての詳細な反応動力学的研究の結果からは、Mant-GTP が結合したり加水分解される反応の各ステップの速度定数は GTP とほとんど変わらないことが明らかにされている。

Mant-GTP を Ras 蛋白質に応用した場合の最大のメリットは、この蛋白質の GTPase 活性を蛍光強度の減少から直接測定できることであろう。この蛍光変化のメカニズムはまだ明らかではないが、Mant-GTP が Mant-GDP に分解されると蛋白質の構造が変わり、この変化を GTP に標識されている Mant 基が感知して蛍光強度を減少させるらしい。この性質を利用して GTPase 活性の直接測定がさかんに行なわれている^{166,169,170,173,178)}。

3. Ant-3',5'-環状ヌクレオチドと Mant-3',5'-環状ヌクレオチド

cAMP と cGMP を Ant 基および Mant 基で標識したヌクレオチドも開発された¹³⁾。その分光学的特性は、対応する蛍光標識-5'-ヌクレオチドと変わらない。これらの蛍光標識ヌクレオチドは、環状ヌクレオチドホスホジエステラーゼの基質として使える¹³⁾。たいへん便利なのは、蛍光団が加水分解を受けるリン酸基のすぐ隣に結合しているため、分解反応の前で蛍光特性が大きく変わることである。たとえば Mant-cGMP を基質として使うと、酵素による加水分解を受けるとその蛍光強度は減少し、元の約 50% になってしまう。これを利用すると、この酵素の活性を直接測定することができる^{191,193,194)}。それまでは、放射性同位元素で標識されたヌクレオチドを使わなければならない、測定に要する時間も長かった。

代わりに 蛍光標識ヌクレオチドを目的に応じて蛋白質の研究に活用すると、天然のヌクレオチドを使ったのでは得られない、さまざまな情報を得ることができる。しかし、本稿にまとめられている応用の文献をみると、これらを活用している研究者が日本では非常に少ないことがよくわかる。いまでは、これらの蛍光標

識ヌクレオチドは一部を除いて市販品として入手可能である。また、原著論文を参考にすると容易に自分の研究室で調製することもできる。

日本で生まれたこれらの蛍光標識ヌクレオチドが日本の研究者によってもよりいっそう活用され、さまざまな蛋白質の構造と機能の研究で目ざましい成果が得られることが筆者の願いである。

文 献

(文献番号を太字にしたものはとくに重要であることを示す)

蛍光標識ヌクレオチドの合成と性質など

- 1) 平塚寿章：生化学, 50, 1036-1050 (1978)
- 2) 平塚寿章：化学と生物, 22, 42-56 (1984)
- 3) 平塚寿章：生物物理, 25, 17-25 (1985)
- 4) 平塚寿章：和光純薬時報, 53, 27-35 (1985)
- 5) 平塚寿章：現代化学, 283, 20-25 (1994)
- 6) 平塚寿章：蛋白質 核酸 酵素, 39, 2322-2334 (1994)
- 7) Hiratsuka, T., Uchida, K.: *Biochim. Biophys. Acta*, 320, 635-647 (1973)
- 8) Hiratsuka, T.: *J. Biochem.*, 78, 1135-1147 (1975)
- 9) Hiratsuka, T., Uchida, K., Yagi, K.: *J. Biochem.*, 82, 575-583 (1977)
- 10) Hiratsuka, T.: *Biochim. Biophys. Acta*, 453, 293-297 (1976)
- 11) Hiratsuka, T.: *Biochim. Biophys. Acta*, 719, 509-517 (1982)
- 12) Hiratsuka, T.: *J. Biol. Chem.*, 260, 4784-4790 (1985)
- 13) Hiratsuka, T.: *J. Biol. Chem.*, 257, 13354-13358 (1982)
- 14) Hiratsuka, T.: *Biochim. Biophys. Acta*, 742, 496-508 (1983)
- 15) Hiratsuka, T.: *J. Biochem.*, 96, 147-154 (1984)
- 16) Hiratsuka, T.: *J. Biochem.*, 96, 155-162 (1984)

応 用 例

A. TNP-ヌクレオチド

a. Ca²⁺-ATPase

- 17) Andersen, J. P., Jørgensen, P. L., Møller, J. V.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82, 4573-4577 (1985)
- 18) Carvalho-Alves, P. C., Oliveira, C. R. G., Verjovski-Almeida, S.: *J. Biol. Chem.*, 260, 4282-4287 (1985)
- 19) Dupont, Y., Pougeois, R., Ronjat, M., Verjovski-Almeida, S.: *J. Biol. Chem.*, 260, 7241-7249 (1985)
- 20) Davidson, G. A., Berman, M. C.: *J. Biol. Chem.*, 260, 7325-7329 (1985)
- 21) Scott, T. L.: *J. Biol. Chem.*, 260, 14421-14423 (1985)
- 22) Berman, M. C.: *J. Biol. Chem.*, 261, 16494-16501 (1986)
- 23) Bishop, J. E., Nakamoto, R. K., Inesi, G.: *Biochemistry*, 25, 696-703 (1986)
- 24) Coll, R. J., Murphy, A. J.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 138, 652-658 (1986)
- 25) Wakabayashi, S., Ogurusu, T., Shigekawa, M.: *J. Biol. Chem.*, 261, 9762-9769 (1986)
- 26) Scherer, N.M., Deamer, D.W.: *Biochim. Biophys. Acta*, 862, 309-317 (1986)

- 27) Wakabayashi, S., Shigekawa, M. : *J. Biol. Chem.*, 262, 11524-11531 (1987)
- 28) Davidson, G. A., Berman, M. C. : *J. Biol. Chem.*, 262, 7041-7046 (1987)
- 29) Squier, T. C., Bigelow, D. J., Ancos, J. G., Inesi, G. : *J. Biol. Chem.*, 262, 4748-4754 (1987)
- 30) Bishop, J. E., Al-Shawi, M. K., Inesi, G. : *J. Biol. Chem.*, 262, 4658-4663 (1987)
- 31) Murphy, A. J. : *Biochim. Biophys. Acta*, 946, 57-65 (1988)
- 32) Bishop, J. E., Al-Shawi, M. K. : *J. Biol. Chem.*, 263, 1886-1892 (1988)
- 33) Ferreira, S. T., Verjovski-Almeida, S. : *J. Biol. Chem.*, 263, 9973-9980 (1988)
- 34) Champeil, P., Riollet, S., Orlowski, S., Guillain, F., Seebregts, C. J., McIntosh, D. B. : *J. Biol. Chem.*, 263, 12288-12294 (1988)
- 35) Seebregts, C. J., McIntosh, D. B. : *J. Biol. Chem.*, 264, 2043-2052 (1989)
- 36) Suzuki, H., Kubota, T., Kubo, K., Kanazawa, T. : *Biochemistry*, 29, 7040-7045 (1990)
- 37) Mintz, E., Lacapère, J.-J., Guillain, F. : *J. Biol. Chem.*, 265, 18762-18768 (1990)
- 38) Jona, I., Matko, J., Martonosi, A. : *Biochim. Biophys. Acta*, 1028, 183-199 (1990)
- 39) Lacapère, J.-J., Guillain, F. : *J. Biol. Chem.*, 265, 8583-8589 (1990)
- 40) McIntosh, D. B., Woolley, D. G., Berman, M. C. : *J. Biol. Chem.*, 267, 5301-5309 (1992)
- 41) Murphy, A. J., Coll, R. J. : *J. Biol. Chem.*, 267, 16990-16994 (1992)
- 42) Troullier, A., Girardet, J.-L., Dupont, Y. : *J. Biol. Chem.*, 267, 22821-22829 (1992)
- 43) DeJesus, F., Girardet, J.-L., Dupont, Y. : *FEBS Lett.*, 332, 229-232 (1993)
- 44) Moutin, M.-J., Cuilleil, M., Rapin, C., Miras, R., Anger, M., Lompré A.-M., Dupont, Y. : *J. Biol. Chem.*, 269, 11147-11154 (1994)
- b. Na⁺, K⁺-ATPase**
- 45) Apell, H.-J., Nelson, M. T., Marcus, M. M., Läuger, P. : *Biochim. Biophys. Acta*, 857, 105-115 (1986)
- 46) Robinson, J. D., Leach, C. A., Davis, R. L., Robinson, L. J. : *Biochim. Biophys. Acta*, 872, 294-304 (1986)
- 47) Davis, R. L., Robinson, J. D. : *Biochim. Biophys. Acta*, 953, 26-36 (1988)
- 48) Murphy, A. J. : *FEBS Lett.*, 263, 175-177 (1990)
- 49) Amler, E., Abbott, A., Ball, W. J., Jr. : *Biophys. J.*, 61, 553-568 (1992)
- 50) Scheiner-Bobis, G., Antonipillai, J., Farley, R. A. : *Biochemistry*, 32, 9592-9599 (1993)
- 51) Ward, D. G., Cavieres, J. D. : *J. Biol. Chem.*, 271, 12317-12321 (1996)
- c. F₁-ATPase**
- 52) Pougeois, R., Lauquin, G. J.-M. : *Biochemistry*, 24, 1020-1024 (1985)
- 53) Matsuno-Yagi, A., Yagi, T., Hatefi, Y. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82, 7550-7554 (1985)
- 54) Tiedge, H., Schäfer, G. : *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, 367, 689-694 (1986)
- 55) Wu, J. C., Wang, J. H. : *Biochemistry*, 25, 7991-7995 (1986)
- 56) Rao, R., Al-Shawi, M. K., Senior, A. E. : *J. Biol. Chem.*, 263, 5569-5573 (1988)
- 57) Garboczi, D. N., Shenbagamurthi, P., Kirk, W., Hüllihen, J., Pedersen, P. L. : *J. Biol. Chem.*, 263, 812-816 (1988)
- 58) Garboczi, D. N., Hüllihen, J. H., Pedersen, P. L. : *J. Biol. Chem.*, 263, 15694-15698 (1988)
- 59) Matsuno-Yagi, A., Hatefi, Y. : *J. Biol. Chem.*, 265, 20308-20313 (1990)
- 60) Garboczi, D. N., Thomas, P. J., Pedersen, P. L. : *J. Biol. Chem.*, 265, 14632-14637 (1990)
- 61) Lee, J. H., Garboczi, D. N., Thomas, P. J., Pedersen, P. L. : *J. Biol. Chem.*, 265, 4664-4669 (1990)
- 62) Hisabori, T., Muneyuki, E., Odaka, M., Yokoyama, K., Mochizuki, K., Yoshida, M. : *J. Biol. Chem.*, 267, 4551-4556 (1992)
- 63) Turina, P., Aggeler, R., Lee, R. S. F., Senior, A. E., Capaldi, R. A. : *J. Biol. Chem.*, 268, 6978-6984 (1993)
- 64) Murataliev, M. B., Boyer, P. D. : *J. Biol. Chem.*, 269, 15431-15439 (1994)
- 65) Xiao, R., Penefsky, H. S. : *J. Biol. Chem.*, 269, 19232-19237 (1994)
- 66) Muneyuki, E., Hisabori, T., Allison, W. S., Jault, J.-M., Sasayama, T., Yoshida, M. : *Biochim. Biophys. Acta*, 1188, 108-116 (1994)
- 67) Hisabori, T., Kobayashi, H., Kaibara, C., Yoshida, M. : *J. Biochem.*, 115, 497-501 (1994)
- 68) Murataliev, M. B. : *Eur. J. Biochem.*, 232, 578-585 (1995)
- 69) Weber, J., Senior, A. E. : *J. Biol. Chem.*, 271, 3474-3477 (1996)
- d. 葉緑体 CF₁**
- 70) Richter, M. L., Snyder, B., McCarty, R. E., Hammes, G. G. : *Biochemistry*, 24, 5755-5763 (1985)
- 71) Snyder, B., Hammes, G. G. : *Biochemistry*, 24, 2324-2331 (1985)
- 72) Wagner, R., Ponse, G., Strotmann, H. : *Eur. J. Biochem.*, 161, 205-209 (1986)
- 73) Musier, K. M., Hammes, G. G. : *Biochemistry*, 27, 7015-7020 (1988)
- 74) Mitra, B., Hammes, G. G. : *Biochemistry*, 27, 245-250 (1988)
- 75) Shapiro, A. B., McCarty, R. E. : *J. Biol. Chem.*, 263, 14160-14165 (1988)
- 76) Shapiro, A. B., McCarty, R. E. : *J. Biol. Chem.*, 265, 4340-4347 (1990)
- 77) Mills, D. A., Richter, M. L. : *J. Biol. Chem.*, 266, 7440-7444 (1991)
- 78) Shapiro, A. B., Gibson, K. D., Scheraga, H. A., McCarty, R. E. : *J. Biol. Chem.*, 266, 17276-17285 (1991)
- 79) Colvert, K. K., Mills, D. A., Richter, M. L. : *Biochemistry*, 31, 3930-3935 (1992)
- 80) Hu, N., Mills, D. A., Huchzermeyer, B., Richter, M. L. : *J. Biol. Chem.*, 268, 8536-8540 (1993)
- 81) Hisabori, T., Kothen, G., Strotmann, H. : *J. Biochem.*, 114, 324-328 (1993)
- 82) Hisabori, T., Mochizuki, K. : *J. Biochem.*, 114, 808-812 (1993)

- 83) Soteropoulos, P., Ong, A. M., McCarty, R. E. : *J. Biol. Chem.*, **269**, 19810-19816 (1994)
- 84) Mills, D. A., Seibold, S. A., Squier, T. C., Richter, M. L. : *Biochemistry*, **34**, 6100-6108 (1995)
- 85) Chen, Z., Spies, A., Hein, R., Zhou, X., Thomas, B. C., Richter, M. L., Gegenheimer, P. : *J. Biol. Chem.*, **270**, 17124-17132 (1995)
- 86) Digel, J. G., McCarty, R. E. : *Biochemistry*, **34**, 14482-14489 (1995)
- e. H⁺-ATPase
- 87) Randall, S. K., Sze, H. : *J. Biol. Chem.*, **262**, 7135-7141 (1987)
- 88) Moriyama, Y., Nelson, N. : *J. Biol. Chem.*, **263**, 8521-8527 (1988)
- 89) Faller, L. D. : *Biochemistry*, **28**, 6771-6778 (1989)
- 90) Bidwai, A. P., Morjana, N. A., Scarborough, G. A. : *J. Biol. Chem.*, **264**, 11790-11795 (1989)
- 91) Adachi, I., Arai, H., Pimental, R., Forgac, M. : *J. Biol. Chem.*, **265**, 960-966 (1990)
- 92) Faller, L. D. : *Biochemistry*, **29**, 3179-3186 (1990)
- 93) Capieaux, E., Rapin, C., Thinès, D., Dupont, Y., Goffeau, A. : *J. Biol. Chem.*, **268**, 21895-21900 (1993)
- 94) Morii, M., Takeguchi, N. : *J. Biol. Chem.*, **268**, 21553-21559 (1993)
- f. その他のATPase
- 95) Bowman, B. J., Dschida, W. J., Harris, T., Bowman, E. J. : *J. Biol. Chem.*, **264**, 15606-15612 (1989)
- 96) Pikula, S., Hayden, J. B., Awasthi, S., Awasthi, Y. C., Zimniak, P. : *J. Biol. Chem.*, **269**, 27566-27573 (1994)
- 97) Cheung, H. C., Gonsoulin, F., Garland, F. : *Biochim. Biophys. Acta*, **832**, 52-62 (1985)
- 98) Miki, M., Hambly, B. D., dos Remedios, C. G. : *Biochim. Biophys. Acta*, **871**, 137-141 (1986)
- 99) Kasprzak, A. A., Takashi, R., Morales, M. F. : *Biochemistry*, **27**, 4512-4522 (1988)
- g. その他の酵素や蛋白質
- 100) Rai, S. S., Kasturi, S. R. : *Biophys. Chem.*, **48**, 359-368 (1994)
- 101) Oberfelder, R., McHenry, C. S. : *J. Biol. Chem.*, **262**, 4190-4194 (1987)
- 102) Mullen, G. P., Shenbagamurthi, P., Mildvan, A. S. : *J. Biol. Chem.*, **264**, 19637-19647 (1989)
- 103) Rosen, B. P., Weigel, U., Karkaria, C., Gangola, P. : *J. Biol. Chem.*, **263**, 3067-3070 (1988)
- 104) Karkaria, C. E., Rosen, B. P. : *Arch. Biochem. Biophys.*, **288**, 107-111 (1991)
- 105) Biswas, E. E., Biswas, S. B., Bishop, J. E. : *Biochemistry*, **25**, 7368-7374 (1986)
- 106) Bujalowski, W., Klonowska, M. M. : *Biochemistry*, **32**, 5888-5900 (1993)
- 107) Bujalowski, W., Klonowska, M. M. : *Biochemistry*, **33**, 4682-4694 (1994)
- 108) Bujalowski, W., Klonowska, M. M. : *J. Biol. Chem.*, **269**, 31359-31371 (1994)
- 109) Sarkar, G., Edery, I., Sonenberg, N. : *J. Biol. Chem.*, **260**, 13831-13837 (1985)
- 110) Delahunty, M. D., Wilson, S. H., Karpel, R. L. : *J. Mol. Biol.*, **236**, 469-479 (1994)
- 111) Pineda, T., Churchich, J. E. : *J. Biol. Chem.*, **268**, 20218-20222 (1993)
- 112) Arora, K. K., Shenbagamurthi, P., Fanciulli, M., Pedersen, P. L. : *J. Biol. Chem.*, **265**, 5324-5328 (1990)
- 113) Vas, M., Merli, A., Rossi, G. L. : *Biochem. J.*, **301**, 885-891 (1994)
- 114) Kwiatkowski, A. P., King, M. M. : *Biochemistry*, **26**, 7636-7640 (1987)
- 115) Gabriel, J. L., Plaut, G. W. E. : *Biochemistry*, **29**, 3528-3535 (1990)
- 116) Gabriel, J. L., Plaut, G. W. E. : *Biochemistry*, **30**, 2594-2599 (1991)
- 117) Cardullo, R. A., Agrawal, S., Bocian, K. M., McKinnon, C. A., Wolf, D. E. : *Anal. Biochem.*, **188**, 305-309 (1990)
- 118) Thomas, P. J., Shenbagamurthi, P., Ysern, X., Pedersen, P. L. : *Science*, **251**, 555-557 (1991)
- 119) Thomas, P. J., Shenbagamurthi, P., Sondek, J., Hüllihen, J. M., Pedersen, P. L. : *J. Biol. Chem.*, **267**, 5727-5730 (1992)
- 120) Ko, Y. H., Thomas, P. J., Delannoy, M. R., Pedersen, P. L. : *J. Biol. Chem.*, **268**, 24330-24338 (1993)
- 121) Ko, Y. H., Thomas, P. J., Pedersen, P. L. : *J. Biol. Chem.*, **269**, 14584-14588 (1994)
- 122) Qu, B.-H., Thomas, P. J. : *J. Biol. Chem.*, **271**, 7261-7264 (1996)
- 123) Hoyer, P. B., Fletcher, P., Haley, B. E. : *Arch. Biochem. Biophys.*, **245**, 369-378 (1986)
- 124) Cheng, K., Koland, J. G. : *J. Biol. Chem.*, **271**, 311-318 (1996)
- 125) Chavan, A. J., Haley, B. E., Volkin, D. B., Marfia, K. E., Verticelli, A. M., Bruner, M. W., Draper, J. P., Burke, C. J., Middaugh, C. R. : *Biochemistry*, **33**, 7193-7202 (1994)
- 126) Sheridan, M., Wilton, D. C. : *FEBS Lett.*, **314**, 486-488 (1992)
- 127) Baubichon-Cortay, H., Baggetto, L. G., Dayan, G., Pietro, A. D. : *J. Biol. Chem.*, **269**, 22983-22989 (1994)
- 128) Urbatsch, I. L., Sankaran, B., Weber, J., Senior, A. E. : *J. Biol. Chem.*, **270**, 19383-19390 (1995)
- 129) Tummino, P. J., Gafni, A. : *Biophys. J.*, **63**, 1071-1080 (1992)
- 130) Reimann, A., Kadenbach, B. : *FEBS Lett.*, **307**, 294-296 (1992)
- 131) Taanman, J.-W., Turina, P., Capaldi, R. A. : *Biochemistry*, **33**, 11833-11841 (1994)
- 132) Lin, J., Wu, S., Chan, S. I. : *Biochemistry*, **34**, 6335-6343 (1995)
- 133) Rieger, T., Napiwotzki, J., Hüther, F.-J., Kadenbach, B. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **217**, 34-40 (1995)
- B. Ant-5'-ヌクレオチド, Mant-5'-ヌクレオチド
- a. F₁-ATPase
- 134) Divita, G., Goody, R. S., Gautheron, D. C., Pietro, A. D. : *J. Biol. Chem.*, **268**, 13178-13186 (1993)
- 135) Jault, J.-M., Divita, G., Allison, W. S., Pietro, A. D. : *J. Biol. Chem.*, **268**, 20762-20767 (1993)
- 136) Falson, P., Penin, F., Divita, G., Lavergne, J.-P., Pietro, A. D., Goody, R. S., Gautheron, D. C. : *Biochemistry*, **32**, 10387-10397 (1993)
- b. ミオシンATPase
- 137) Mihashi, K., Ooi, A., Hiratsuka, T. : *J. Biochem.*

- 107, 464-469 (1990)
- 138) Cremona, C. R., Neuron, J. M., Yount, R. G. : *Biochemistry*, **29**, 3309-3319 (1990)
- 139) Woodward, S. K. A., Eccleston, J. F., Geeves, M. A. : *Biochemistry*, **30**, 422-430 (1991)
- 140) Bagshaw, C. R., Matuska, M., Spudich, J. A. : *J. Muscle Res. Cell Motil.*, **13**, 266-267 (1992)
- 141) Ritchie, M. D., Geeves, M. A., Woodward, S. K. A., Manstein, D. J. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 8619-8623 (1993)
- 142) Sowerby, A. J., Seehra, C. K., Lee, M., Bagshaw, C. R. : *J. Mol. Biol.*, **234**, 114-123 (1993)
- 143) Rosenfeld, S. S., Xing, J., Renner, B., Lebowitz, J., Kar, S., Cheung, H. C. : *J. Biol. Chem.*, **269**, 30187-30194 (1994)
- 144) Anson, M., Drummond, D. R., Geeves, M. A., Hennessey, E. S., Ritchie, M. D., Sparrow, J. C. : *Biophys. J.*, **68**, 1991-2003 (1995)
- 145) Franks-Skiba, K., Cooke, R. : *Biophys. J.*, **68**, 142s-149s (1995)
- 146) Woodward, S. K. A., Geeves, M. A., Manstein, D. J. : *Biochemistry*, **34**, 16056-16064 (1995)
- c. その他のモーター蛋白質および細胞骨格蛋白質
- 147) Inaba, K., Okuno, M., Mohri, H. : *Arch. Biochem. Biophys.*, **274**, 209-215 (1989)
- 148) Sadhu, A., Taylor, E. W. : *J. Biol. Chem.*, **267**, 11352-11359 (1992)
- 149) Ma, Y.-Z., Taylor, E. W. : *Biochemistry*, **34**, 13233-13241 (1995)
- 150) Ma, Y.-Z., Taylor, E. W. : *Biochemistry*, **34**, 13242-13251 (1995)
- 151) Shimizu, T., Sablin, E., Vale, R. D., Fletterick, R., Pechatnikova, E., Taylor, E. W. : *Biochemistry*, **34**, 13259-13266 (1995)
- 152) Rosenfeld, S. S., Renner, B., Correia, J. J., Mayo, M. S., Cheung, H. C. : *J. Biol. Chem.*, **271**, 9473-9482 (1996)
- 153) Lockhart, A., Cross, R. A. : *Biochemistry*, **35**, 2365-2373 (1996)
- 154) Rai, S. S., Kasturi, S. R. : *Arch. Biochem. Biophys.*, **306**, 133-138 (1993)
- d. 各種キナーゼ
- 155) Haase, G. H. W., Brune, M., Reinstein, J., Pai, E. F., Pingoud, A., Wittinghofer, A. : *J. Mol. Biol.*, **207**, 151-162 (1989)
- 156) Reinstein, J., Vetter, I. R., Schlichting, I., Röscher, P., Wittinghofer, A., Goody, R. S. : *Biochemistry*, **29**, 7440-7450 (1990)
- 157) Pineda, T., Kwon, O.-S., Serpersu, E. H., Churchich, J. E. : *Eur. J. Biochem.*, **212**, 719-726 (1993)
- 158) Rittinger, K., Negre, D., Divita, G., Scarabel, M., Bonod-Bidaud, C., Goody, R. S., Cozzzone, A. J., Cortay, J.-C. : *Eur. J. Biochem.*, **237**, 247-254 (1996)
- e. GTP 結合蛋白質
- 159) Kalbitzer, H. R., Feuerstein, J., Goody, R. S., Wittinghofer, A. : *Eur. J. Biochem.*, **188**, 355-359 (1990)
- 160) Wagner, A., Simon, I., Sprinzl, M., Goody, R. S. : *Biochemistry*, **34**, 12535-12542 (1995)
- 161) Giovane, A., Balestrieri, C., Balestrieri, M. L., Servillo, L. : *Eur. J. Biochem.*, **227**, 428-432 (1995)
- 162) Remmers, A. E., Posner, R., Neubig, R. R. : *J. Biol. Chem.*, **269**, 13771-13778 (1994)
- 163) Leonard, D. A., Evans, T., Hart, M., Cerione, R. A., Manor, D. : *Biochemistry*, **33**, 12323-12328 (1994)
- 164) Zera, E. M., Molloy, D. P., Angleson, J. K., Lamture, J. B., Wensel, T. G., Malinski, J. A. : *J. Biol. Chem.*, **271**, 12925-12931 (1996)
- 165) Remmers, A. E., Neubig, R. R. : *J. Biol. Chem.*, **271**, 4791-4797 (1996)
- 166) Neal, S. E., Eccleston, J. F., Webb, M. R. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 3562-3565 (1990)
- 167) John, J., Sohmen, R., Feuerstein, J., Linke, R., Wittinghofer, A., Goody, R. S. : *Biochemistry*, **29**, 6058-6065 (1990)
- 168) Rensland, H., Lautwein, A., Wittinghofer, A., Goody, R. S. : *Biochemistry*, **30**, 11181-11185 (1991)
- 169) Eccleston, J. F., Moore, K. J. M., Brownbridge, G. G., Webb, M. R., Lowe, P. N. : *Biochem. Soc. Trans.*, **19**, 432-437 (1991)
- 170) Moore, K. J. M., Webb, M. R., Eccleston, J. F. : *Biochemistry*, **32**, 7451-7459 (1993)
- 171) Brownbridge, G. G., Lowe, P. N., Moore, K. J. M., Skinner, R. H., Webb, M. R. : *J. Biol. Chem.*, **268**, 10914-10919 (1993)
- 172) John, J., Rensland, H., Schlichting, I., Vetter, I., Borasio, G. D., Goody, R. S., Wittinghofer, A. : *J. Biol. Chem.*, **268**, 923-929 (1993)
- 173) Eccleston, J. F., Moore, K. J. M., Morgan, L., Skinner, R. H., Lowe, P. N. : *J. Biol. Chem.*, **268**, 27012-27019 (1993)
- 174) Hazlett, T. L., Moore, K. J. M., Lowe, P. N., Jameson, D. M., Eccleston, J. F. : *Biochemistry*, **32**, 13575-13583 (1993)
- 175) Scheidig, A. J., Franken, S. M., Corrie, J. E. T., Reid, G. P., Wittinghofer, A., Pai, E. F., Goody, R. S. : *J. Mol. Biol.*, **253**, 132-150 (1995)
- 176) Gorman, C., Skinner, R. H., Skelly, J. V., Neidle, S., Lowe, P. N. : *J. Biol. Chem.*, **271**, 6713-6719 (1996)
- 177) Herrmann, C., Horn, G., Spaargaren, M., Wittinghofer, A. : *J. Biol. Chem.*, **271**, 6794-6800 (1996)
- 178) Sermon, B. A., Eccleston, J. F., Skinner, R. H., Lowe, P. N. : *J. Biol. Chem.*, **271**, 1566-1572 (1996)
- 179) Klebe, C., Nishimoto, T., Wittinghofer, F. : *Biochemistry*, **32**, 11923-11928 (1993)
- 180) Klebe, C., Prinz, H., Wittinghofer, A., Goody, R. S. : *Biochemistry*, **34**, 12543-12552 (1995)
- f. その他の酵素や蛋白質
- 181) Moore, K. J. M., Lohman, T. M. : *Biochemistry*, **33**, 14550-14564 (1994)
- 182) Moore, K. J. M., Lohman, T. M. : *Biochemistry*, **33**, 14565-14578 (1994)
- 183) Churchich, J. E. : *Eur. J. Biochem.*, **231**, 736-741 (1995)
- 184) Jakob, U., Scheibel, T., Bose, S., Reinstein, J., Buchner, J. : *J. Biol. Chem.*, **271**, 10035-10041 (1996)
- 185) Dayan, G., Baubichon-Cortay, H., Jault, J.-M., Cortay, J.-C., Deléage, G., Pietro, A. D. : *J. Biol. Chem.*, **271**, 11652-11658 (1996)

- 186) Sarfati, R. S., Kansal, V. K., Munier, H., Glaser, P., Gilles, A.-M., Labruyère, E., Mock, M., Danchin, A., Bârzu, O. : *J. Biol. Chem.*, 265, 18902-18906 (1990)
- 187) Glaser, P., Munier, H., Gilles, A.-M., Krin, E., Porumb, T., Bârzu, O., Sarfati, R., Pellecuer, C., Danchin, A. : *EMBO J.*, 10, 1683-1688 (1991)
- 188) Labruyère, E., Mock, M., Surewicz, W. K., Mantsch, H. H., Rose, T., Munier, H., Sarfati, R. S., Bârzu, O. : *Biochemistry*, 30, 2619-2624 (1991)
- 189) Kakitani, M., Tonomura, B., Hiromi, K. : *Biochim. Biophys. Acta*, 996, 76-81 (1989)
- C. Ant-3',5'-環状ヌクレオチド, Mant-3',5'-環状ヌクレオチド
- 190) Karuppiyah, N., Mutus, B. : *Anal. Biochem.*, 149, 202-208 (1985)
- 191) Johnson, J. D., Walters, J. D., Mills, J. S. : *Anal. Biochem.*, 162, 291-295 (1987)
- 192) Grewal, J., Karuppiyah, N., Mutus, B. : *Biochem. Int.*, 19, 1287-1295 (1989)
- 193) McIlroy, B. K., Walters, J. D., Blackshear, P. J., Johnson, J. D. : *J. Biol. Chem.*, 266, 4959-4964 (1991)
- 194) Alfonso, A., Estévez, M., Louzao, M. C., Vieytes, M. R., Botana, L. M. : *Cell. Signal.*, 7, 513-518 (1995)
- 195) Donoso-Pardo, J. L., Turner, P. C., King, R. W. : *Eur. J. Biochem.*, 168, 687-694 (1987)

公 務

大阪府立母子保健総合医療センター研究所
流動研究員 1名

応募資格：博士号取得(見込み)者あるいは研究歴4年以上の方(企業等の研究・開発部門での研究従事期間も含む)。遺伝子操作, 細胞培養, 蛋白質の精製・キャラクタリゼーションなど, 細胞生物学, 生化学の基礎技術に習熟した人が望まれますが, 研究意欲の旺盛な方であればそのバックグラウンドにはとくにこだわりません。

研究内容：細胞接着分子の生化学・細胞生物学。とくに, インテグリンを介した細胞外マトリックスへの細胞接着の分子機構とそれに共役したシグナル伝達機構および細胞外マトリックスによる細胞の増殖, 分化, アポトーシスの制御機構の解析。

期間：平成9年1月より1年更新で3年まで

応募方法：履歴書(研究歴も含む), 発表論文・学会発表のリストと別刷および推薦状(自薦でも可)

連絡先：〒590-02 大阪府和泉市室堂町840
大阪府立母子保健総合医療センター研究所
病因病態部門 関口清俊
Tel.0725-56-1220 ext.5401 FAX 0725-57-3021

公 務

理化学研究所生物有機化学研究室 研究員

研究分野：当研究室では, 特定の病態(動脈硬化, がん等)に関与する蛋白質(酵素, サイトカイン等)を同定し, その構造と機能を, 生化学および分子生物学的手法を用いて解明することを主要なテーマとしています。

応募資格：平成9年2月1日現在35歳以下で, 博士の学位を取得または取得見込みであること, 蛋白質の精製および遺伝子のクローニングに習熟していること(組換え型蛋白質の発現, 精製の経験を有する人を優先)

応募締切：平成9年1月17日(必着)

提出書類：履歴書, 発表論文リストおよび主要論文の別刷, 従来の研究内容と今後の研究に対する抱負(800字程度), 推薦書1通(自薦の場合は不要)

採用時期：平成9年4月1日以降

書類送付・問合せ先：〒351-01 埼玉県和光市広沢2-1
理化学研究所生物有機化学研究室 辻本雅文
Tel.048-467-9370 FAX 048-462-4670
E-mail: tsujimot@postman.riken.go.jp

お知らせ

神奈川科学技術アカデミー 平成8年度 第IV期

◆アポトーシス実験法入門コース——細胞死(アポトーシス)検出法を中心に

カリキュラム編成者：山田 武(東邦大・医)

コースの特色・ねらい：これから研究を始められる研究者, あるいはこれまでに研究を行なっている方にも役に立つアポトーシス関連実験法, とくにアポトーシス細胞の検出法を紹介する。

講義日：平成9年3月11~14日(計4日)

おもなカリキュラム内容：アポトーシス検出法総論/アポトーシスの分子機構(死のシグナル伝達から実行過程までの多様な分子制御機構)/検出法各論(細胞学的方法, 生化学的方法)/アポトーシス関連遺伝子実験法/総括および総合討論

検出法実習(組織化学・生化学)：細胞死の一般的検出法/蛍光染色法など顕微鏡観察/アポトーシスに特異

的なDNA断片化を検出する/電気泳動法<ラダー像の検出>/組織化学的検出による組織内でのアポトーシス細胞の局在部位の同定法/フローサイトメトリーによる検出法[東邦大学医学部生物学教室]

募集人員：20名

受講料：60,000円 KAST 法人賛助会員(事業所単位) 54,000円

申込締切：平成9年2月21日

連絡・おもな講義場所：

〒213 川崎市高津区坂戸3-2-1 KSP 西棟6F

(財)神奈川科学技術アカデミー 教育部教育研修課

担当：笠原

Tel.044-819-2033 FAX 044-819-2026

E-mail: kast-ed@net.ksp.or.jp