

氏名 藤井 敏弘

目的別テーマ： 生体材料を用いたバイオミメティックス材料の開発

15年度研究テーマ

15-3-10 : 細胞内繊維構造体の分子集合を利用したマイクロマシンの創出

ABSTRACT

The interaction of a protein-bound polysaccharide (PSK) isolated from Basidiomycetes with smooth muscle myosin components was examined. PSK was bound to the regulatory light chain (RLC) of myosin, but not to the essential light chain. From the amino acid sequence of the RLC, 490 peptides were synthesized on a cellulose membrane. Overlay assays showed that the PSK-binding on the molecule of RLC were localized in the N- and C-terminal basic and acidic regions and these sites were conserved in RLC from the human smooth muscle and nonmuscle cells. These results suggest that PSK affects actomyosin system by interacting with RLC in human nonmuscle cells containing tumor cells.

研究目的

細胞運動は運動タンパク質間の滑りによりもたらされている。運動タンパク質は、ファイバー構造とエネルギー変換機能を必ず含む。特に筋肉においての基本エレメントであるミオシンとアクチンの両フィラメントは規則正しい構造と高い ATP 分解能をもつことから多くのモデルに利用されており、生体中の代表的なアクチエーターといえる。ミオシンあるいはアクチン-ミオシンをフィルム、ゲル、その他の細胞内繊維構造体に組み込み運動性をもたせればマイクロマシンの創出にもつながる。この足場として、15-3-9 における中心題材である毛髪タンパク質フィルムやゲルと 15-3-2 で使用しているナノファイバーを利用して新規のアクチエーターの開発を行う。

一年間の研究内容と成果

本年は制御系結合部位の基本的な研究を中心とした。平滑筋及び非筋肉細胞での収縮へのシグナルは細胞内カルシウム濃度の上昇、カルシウム/カルモデュリン複合体の形成、ミオシン軽鎖キナーゼ (MLCK) 活性の活性化、ミオシン調節軽鎖 (RLC) へのリン酸化、リン酸化ミオシンのアクチンとの相互作用、アクトミオシン ATPase の上昇、細胞運動へと繋がっている。PSK がアクトミオシン ATPase 活性を阻害することから、ミオシン軽鎖との相互作用の有無を調べた。PSK-アフィニティークロマトグラフィーの結果、RLC と必須軽鎖 (ELC) の 2 種類の軽鎖の中で、RLC と結合性を有することが判明した。そこで、既知の RLC のアミノ酸配列を基に、1 残基ごとずらしたペプチド (6, 8, 12 残基) をスポットとして合計 490 個、セルロース膜上に合成した。PSK との結合をオーバーレイ・アッセイで調べた結果、少なくとも N 末と C 末の 2 カ所に結合部位が存在した (Fig. 1)。特に、N 末側の結合部位は MLCK によるリン酸化部位とオーバーラップすることから、この部位への結合が PSK の生理作用に関連することが考えられる。

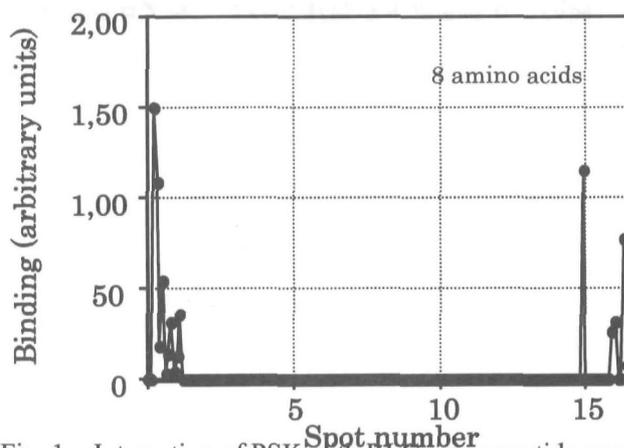


Fig. 1 Interaction of PSK with RLC using peptide array

展望

・アルカリンホスファターゼの毛髪フィルムや PIC カプセルへの導入に成功しているので、アクチン、ミオシンに取り入れたフィルムやカプセルの創出を行う。