

# 生体高分子並びに合成高分子集合体からなる 自立応答機能材料に関する研究

平井利博、藤井敏弘、小林俊一、渡辺真志、白井汪芳

信州大学 繊維学部

報告者：平井利博、藤井敏弘

## (1) 緒言

このプロジェクトでは繊維系高分子材料を初めとする高分子あるいは生体系分子集合体からなる柔軟構造体が外部環境に応じて様々な応答を示す機構、並びにそれらを応用したセンシングや駆動材料系を構築することを目指している。本年度（平成 11 年度）は、合成高分子系における人工筋肉材料の開発と生体高分子系における新規制御材料の研究、それぞれの立場からの成果を示す。これらの成果は平成 12 年度における自律応答駆動系（人工筋肉）を目指す合成高分子・生体高分子ハイブリッド系駆動材料への展開に繋げる予定である。

## (2) 繊維系汎用高分子材料を用いた電場応答型人工筋肉材料の開発

従来、繊維材料などに汎用されている非イオン性高分子材料は電場に応答しないか、あるいは応答してもその応答性は極めて限定されるものと考えられていた。従って、高速・大変形駆動材料などへの応用については全く検討の対象にならなかった。特に、非イオン性の柔軟ゲル材料はそのような電場応答材料とは見なされていなかった。本研究プロジェクトでは、こうした従来の概念が誤りであることを実証した。以下に、その概要を示す。

ポリビニルアルコール・ジメチルスルホキシド（PVA/DMSO）ゲルはイオン性成分を含まないため電場に対して高分子電解質あるいはそのゲルが示すような明瞭な応答を示さないものと考えられていた。これらの材料ではしかしながら電極での電解反応による化学的な消耗が不可避であり、これに由来する発熱も顕著なため

耐久性のある駆動材料を作製するには多くの問題を内包している。

内部に不均質な非対称性を持たない均質な PVA/DMSO ゲルは電場方向とその直交方向にのみ歪みを生じるものと考えられ、そのような視点で検討されたことはあるが、本プロジェクトではこうした予測に反し、このゲル材料が顕著な非対称歪みを瞬時に発生し、電場印加の間その歪みを一定に保持することを発見した。その機構は、電極からの電荷の注入と、溶媒和した注入電荷がゲル内を電場方向に流動することに伴う圧力勾配の発生に由来することを明らかにできた。90 度を越える屈曲を 60 ミリ秒で完結し、その時に発生する歪みは 100%に達する。この歪みを保持している時に観察される定常電流値は 30 マイクロアンペア程度の低い値であり、高分子電解質系の数 10 ミリアンペアに比して、圧倒的に発熱などによるエネルギー損失が低い。また、この変形機構を利用すると、電極上に置いたゲルが生物様のクローリングや振動など従来の電歪材料では知られていない新規な運動を示すことが明らかにされた。

これらの成果の重要な点は、提示された概念が極めて汎用性に優れ、多くの汎用高分子材料が優れた駆動材料に応用できることを示唆できた点である。

## (3) 生体高分子系-カルボニンの新規アクチン結合部位の同定と生理機能-

### 3.1 緒言

平滑筋のアクチン、カルモデュリン結合タンパク質として発見された塩基性カルボニン (bCaP) は、分子量 32,333, 等電点 9.91 で 7 個のエキソン (exon) から成る。bCaP のアクチンとの結合はアクトミオシン ATPase 活性を抑制すること等

から、平滑筋収縮弛緩の調節因子として考えられている。bCaP のエキソン 5-7 領域でアクチンと結合するというこれまでの研究に加え、エキソン 1-3 の領域に新規のアクチン結合部位があることを、最近当研究室で見出している。

平滑筋収縮は骨格筋の場合同様に細胞内カルシウム濃度の上昇により引き起こされる。この特徴は、カルシウム濃度が下がった後も収縮状態が維持されることにある。これは、ラッチ収縮と呼ばれており、ミオシン軽鎖のリン酸化-脱リン酸化では説明できない。このため、アクチン側の制御タンパク質に依るものと考えられているが、そのメカニズムについては未だに解明されていない。

私たちは bCaP の新規アクチン結合部位がラッチ収縮に関係することを仮定している。本研究では、第一段階としてエキソン 1-3 (N-bCaP), 5-7 (C-bCaP) の調製とこれらのフラグメントがアクチン分子にもたらす性質の比較検討を行った。

### 3.2 実験方法

#### 3.2.1 蛋白質の調製

Full size の bCaP (F-bCaP) は鶏砂囊より精製した。N-bCaP と C-bCaP は PCR 法により作製した cDNA を蛋白発現用ベクター pAED4 に組み込み、BL21(DE3) 株に形質転換した。IPTG を添加することにより蛋白質合成を誘導し、精製を行った。アクチン、ミオシンは兎骨格筋より単離した。

#### 3.2.2 CaP と各蛋白質との相互作用

結合アッセイは sedimentation, 蛍光, chemical cross-linking, ATPase 活性測定などで調べた。

### 3.3 結果及び考察

#### 3.3.1 CaP の新たな結合部位の発見

bCaP の分子構造の特徴は、N 末側にカルポニンホモロジードメイン (calponin-homology domain; CH) が Q29-L127 [exon (2-4)] に含まれている。アクチン調節蛋白質として知られている IQGAP, filamin,  $\alpha$ -actinin, fimbrin などのアクチン結合部位が CH ドメインにあるのに対して、カルポニンの CH ドメインにはアクチンとの結合部位はないとされていた。bCaP の分子解剖を研究中、今までの定説を覆し CH ドメイン中に新たな F-アクチン結合部位 (N-bCaP) を見いだした。

#### 3.3.2 新しい結合部位のアクチンとの結合

N-(1-pyrenyl) iodoacetamide はアクチンの C 末に近い、Cys-374 と特異的に結合するため、結合部位を調べるプローブとして使われている。F-bCaP と C-bCaP は C 末側と結合するのに対して、N-bCaP は C 末側とは結合しない可能性のデータが得られた。現在、詳しく検討中である。

次に、アクトミオシン ATPase 活性への影響を

調べた。興味深いことに F-bCaP, C-bCaP は阻害作用を示すのに対して、N-bCaP は全く影響を与えなかった (Fig. 1)。このことは、N-bCaP は未知の生理機能をもつ可能性が考えられる。

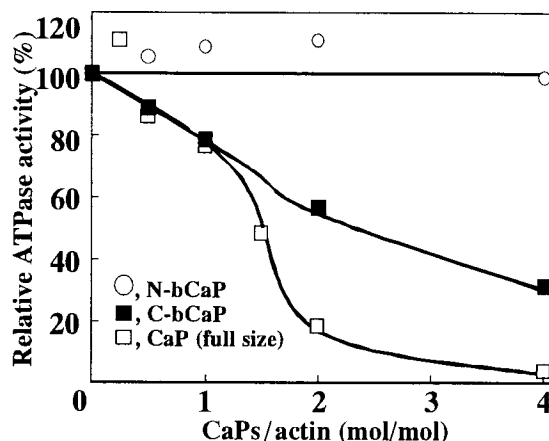


Fig. 1 Effects of bCaPs on actomyosin ATPase activity

### 3.4 結論・展望

bCaP 分子内で新規のアクチン結合部位を見いだした。新規結合部位は N-bCaP 部位を通じて、ラッチ収縮に関わる可能性が考えられるため、この仮定を証明する方向で研究を進める。