

B14 ラミニン α 5鎖Gドメイン由来の生物活性ペプチドの同定

岡崎郁子, 牧野正義, 西則雄, 野水基義
(北大・地球環境)

【目的】 ラミニンは α 、 β 、 γ 鎖の3つのサブユニットからなる基底膜タンパク質で、細胞接着、神経突起伸張、血管新生、がんの増殖転移などに深く関係している。ラミニン α 5鎖は、 α 鎖の中でも最も多く生体内で発現しており、その詳細な生物活性の解明が注目されている。そこで我々は、ラミニン α 5鎖の機能に重要な役割を果たしていると考えられるGドメインに注目し、機能部位の同定と生物活性の解明を目的に研究を行った。

【対象ならびに方法】 ラミニン α 5鎖Gドメインをすべてカバーした113種類のペプチドを合成し、細胞への接着活性を調べた。ペプチドをプレートにコートする方法と、セファロースビーズに結合させる方法の2種類で細胞接着活性を調べた。活性の見られたペプチドについては、EDTAやヘパリンを用いた細胞接着の阻害実験を行い、そのペプチドがどのようなレセプターと関係しているのかを検討した。また特に活性の強いペプチドについて、N末端あるいはC末端からアミノ酸を一つずつ削ったペプチドを用いることにより活性中心を決定した。

【結果および考察】 プレート法とビーズ法を用いた2種類の細胞接着アッセイにおいて、18種類のペプチドに活性が見られた。その中で最も強い活性を示したA5G-27(RLVSYNGIIFFLK)、A5G-65(HQNMGSVNVSVG)、A5G-71(GPLPSYLQFVGI)の細胞接着活性は、ヘパリンによって阻害されたが、EDTAには阻害されなかった。また、これらには6~11アミノ酸残基の活性中心があった。これらの活性ペプチドは、ラミニン α 5鎖の詳細な生物活性を調べる上で有用であるとともに、組織工学などの医薬分野への応用が期待される。

Identification of biologically active peptide segment from the laminin alpha 5 chain G domain.

Ikuko Okazaki, Masayoshi Makino, Norio Nishi, Motoyoshi Nomizu
Graduate School of Environmental Earth Science, Hokkaido University

B15 尿中より精製した細胞接着性蛋白の検討

磯貝正博, 中野太郎, 牛込充則, 本田善子, 緒方秀昭, 畠山知昭, 岡本康介, 高塚純, 柴忠明 (東邦大学・医・第二外科)

【目的】ゼラチンやヘパリンに親和性を示す蛋白は、細胞接着活性を示す可能性があるが、ヒト尿においてこうした親和特性を持つ蛋白の報告はない。我々は、尿よりゼラチンやヘパリンに親和性を示す微量蛋白を見出し、細胞接着活性や生体内局在について検討した。

【対象および方法】精製には、I型コラーゲンをリガンドとしたコラーゲンアガロースアフィニティクロマトグラフィーを行った。細胞接着活性はBHK細胞を用い、また、フィブロネクチンとの比較、RGDペプチドによる抑制の有無について検討した。生体内局在については、精製蛋白より家兔抗ヒト抗体を作製し、各組織の免疫染色を行った。陽性組織に対しては、マウス、ラット、犬などヒト以外の動物で同様の染色を行い、種に対する特異性も検討した。

【結果】精製蛋白は、分子量約93Kdであった。細胞接着活性は、フィブロネクチンの約1/20で、RGDペプチドにより抑制された。生体内の局在では、腎臓内の尿細管上皮で、形態的には遠位尿細管に限局したが、腎臓以外の組織には認められなかった。他の動物に対する検討では、陽性となった腎臓に対し抗ヒト抗体による免疫染色を行い、犬、ラット・マウスの順で強陽性を示した。

【考察】本蛋白は、フィブロネクチンに比べ弱い細胞接着活性を示す、RGD依存型の細胞接着性蛋白と考えられた。また、ヒト以外の動物に対し抗ヒト抗体が反応する点では、種属を越えよく保たれる従来の細胞接着性蛋白の特徴と一致した。一方、生体内の局在性においては、従来の接着性蛋白が生体内に幅広く存在している点で大きく異なった。

【結論】以上より本蛋白は新しい細胞接着性蛋白であると考えられた。

The investigation of a new purified adhesive protein derivative of human urine

Masahiro Isogai, Taro Nakano, Mitunori Ushigome, Yoshiko Honda, Tomoaki Hatakeyama, Kosuke Okamoto, Jun Takatuka, Tadaaki shiba
Dept. of Surg II., Sch of Med, Toho Univ.