

ID No.	S201
研究課題名	RANK からのシグナル伝達を制御する人工システムの構築
研究代表者	大塚 雅巳 (熊本大学・教授)
研究組織 受入教員 研究分担者	井上 純一郎 (東京大学医科学研究所・教授) 藤田 美歌子 (熊本大学・准教授) 古賀 涼子 (熊本大学・研究補助員)
研究報告 低分子化合物または物理的刺激により、GST融合RANK蛋白質からのシグナルを開始させるシステムを構築することを本研究の目的とした。これは生体機能解明のための新しいツールとなる。 研究申請者と医科研受入教員井上は、蛋白質を三量化しシグナルを開始させる人工システムの構築を目指し、骨吸収に関わるRANKの細胞外ドメインにGST蛋白質を挿入した融合蛋白質3種類を設計し、それらの発現ベクターを構築した。次に293T細胞における蛋白質発現をウエスタンブロットにより確認し、さらに発現の際にGST蛋白質が細胞の外側に位置することを蛍光顕微鏡により確認した。 研究申請者らは市販の抗GST抗体が結合した磁気ビーズを細胞表面にあるGST蛋白質に結合させ、細胞外に置いた磁石を激しく振動させることにより生じる物理的刺激を加えるという着想を得、予備的実験を行ったところ、弱いながら確実なシグナルを導入することができた。外部磁石の振動に合わせてGST-RANKも細胞膜上で振動するため、静置している場合に比べて、他のシグナルタンパク質と邂逅しやすくなったものと考えられた。 この実験系において、磁気の強度、振とうの速度および時間、磁気ビーズの種類（グルタチオン結合磁気ビーズも検討）などを検討した。RANKからのシグナルを最も効率良く導入できる実験系を見出すことが期待される。 GST に結合する有機低分子化合物グルタチオンが3つ集積した化合物を種々合成し、GST-RANK を三量化させることをさらに検討したが、成功していない。グルタチオン三量体による GST-融合蛋白質の三量化を介したシグナルの開始に必要な条件を更に検討する。	