

提出日:2025 年 4 月 30 日

2024 年度 Bio-SPM 技術共同研究事業

## 研究成果の概要

実験課題名	ミオシン軽鎖ホスファターゼのリン酸化による不活性化メカニズムの解明		
申請者 (実験責任者)	氏名	山下 哲生	
	所属機関名・部局名	香川大学・医学部	
	職名	助教	
利用した Bio-SPM 技術 (該当の技術の右欄に○)		<input type="checkbox"/>	原子分解能/3D-AFM
		<input checked="" type="checkbox"/>	高速 AFM
		<input type="checkbox"/>	SICM
		<input type="checkbox"/>	細胞測定 AFM
NanoLSI 受入担当教員名	古寺 哲幸		
<p>平滑筋ミオシン軽鎖脱リン酸化酵素 (MLCP) のリン酸化による不活性化は血管緊張を亢進させ、様々な血管病の発症基盤となる。従って、MLCP 不活性化のメカニズムは病的な血管緊張を防ぐ重要な治療標的となるが、このメカニズムには未だ不明な点が多く、血管生理学における最大の未解決課題となっている。MLCP は、非触媒サブユニット MYPT1 の N 末端領域に触媒サブユニット PP1c が、C 末端領域にもう一つの非触媒サブユニット M20 が結合するヘテロ 3 量体を構成する。MYPT1 はスレオニン-696 (T696) および-853 (T853) のリン酸化によって PP1c の触媒活性を負に制御する。しかし、サブユニット間相互作用の中で、特に MLCP 活性制御における M20 の役割は不明である。MYPT1 のリン酸化制御における M20 の関与を明らかにするため、PP1c/MYPT1/M20 から構成される 3 量体 MLCP と、PP1c/MYPT1 から構成される 2 量体 MLCP を用い Rho キナーゼによるリン酸化実験を行った。M20 の存在と MYPT1 のリン酸化に相関が認められた。M20 は MLCP における MYPT1 の自己脱リン酸化を阻害することが示された。</p> <p>3 量体 MLCP および 2 量体 MLCP の全体構造 (サブユニット構成) の違いを明らかにするため、高速原子間力顕微鏡を用いて観察を行った。3 量体 MLCP では、PP1c および M20 がそれぞれ MYPT1 の両端に結合しており、それ以外の領域は構造を持たない天然変性領域であることが明らかとなった。一方、2 量体 MLCP では、2 分子の MYPT1 が C 末端同士で結合し、PP1c/MYPT1-PP1c/MYPT1 複合体を形成していることが確認された。</p> <p>これらの結果から、M20 は MYPT1 の C 末端に結合し、MYPT1 の 2 量体形成を抑制することで MLCP における MYPT1 の自己脱リン酸化を阻害することが示された。その機構として、2 量体 MLCP では 3 量体 MLCP と比べて、触媒部位 (PP1c) および基質 (リン酸化 MYPT1) の数がそれぞれ 2 倍に増加することが関与していると考えられる。本研究により、MLCP の活性制御における M20 の役割とその機構が初めて明らかになった。</p>			

※本様式 3 は、“事業成果報告”として、NanoLSI Web サイトにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限:2025 年 5 月 9 日(金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先:金沢大学 WPI-NanoLSI Bio-SPM 技術共同研究事業担当係 国岡 E-mail: [nanolsi\\_openf01@ml.kanazawa-u.ac.jp](mailto:nanolsi_openf01@ml.kanazawa-u.ac.jp)