

## 30M-am05

カルモジュリン-ミオシンを介したP-815細胞の接着と遊離

○吉富 久恵<sup>1</sup>, 扇間 昌規<sup>1</sup>, 吉野 健一<sup>2</sup>, 市川 厚<sup>1</sup> (<sup>1</sup>武庫川女大薬, <sup>2</sup>神戸大バイオシグナル研セ)

【目的】 マウスマスト細胞腫 (mastocytoma P-815) は細胞増殖因子(SCF)レセプター(c-kit レセプター・チロシンキナーゼ)の機能性獲得突然変異細胞である。正常マスト細胞は骨髄由来前駆細胞が分化し、血液系を経て結合組織や粘膜組織に移行し、定着する。マスト細胞の表現形質は分化した場所や促進因子により異なるが、その移行や定着のメカニズムは不明である。本研究は、P-815細胞がSCF受容体の恒常的活性化体であることに着目して、恒常的なSCF活性化がマスト細胞の接着にどのような影響を及ぼすかについて解析することを目的としている。

【結果】 P-815細胞は浮遊細胞として増殖するが、細胞は培養プレートに播種直後一過性にプレートに接着し、この接着はプレート表面の疎水性/親水性基の比率と関係することを発見した。阻害剤や抗体を用いた実験から、プレートへの添加後1時間までの細胞接着はEDTA, BAPTA, TPA非感受性、カルモジュリン(CaM)、ミオシン軽鎖(MLCII)感受性であった。接着細胞数は添加後1-2時間内にピークを迎え、以後減少する。その減少はEDTA, BAPTA, CaM-ミオシン系依存的であった。細胞接着後のプレートには、新たに細胞は接着できないが、トリプシン処理後プレートには接着できる。トリプシン処理で可溶化する複数のタンパク質の分子種を分離同定し、接着活性に関わるタンパク質を検索中である。

【結論】 c-kit 活性化 P-815細胞は活性化受容体のポストシグナルにより、CaM依存性MLCの活性化が起こり、トリプシン感受性タンパクを介してプレートに接着するが、接着細胞はプレートからのout side-in刺激により、Ca<sup>2+</sup>流入が起こり再度CaM依存性MLCを活性化し遊離すると思われる。しかし細胞接着時にEDTA, BAPTA非感受性の機構は不明である。