

ヘム蛋白プロファイリングによる細胞膜酸素センサー分子の同定

メタデータ	言語: jpn
	出版者:
	公開日: 2021-02-19
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: Yamamoto, Hiroshi
	メールアドレス:
	所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00060453

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



ヘム蛋白プロファイリングによる細胞膜酸素センサー分子の同定

Research Project

Project/Area Number	14657032
Research Category	Grant-in-Aid for Exploratory Research
Allocation Type	Single-year Grants
Research Field	General medical chemistry
Research Institution	Kanazawa University
Principal Investigator	山本 博 金沢大学, 医学系研究科, 教授 (00115198)
Co-Investigator(Kenkyū-buntansha)	渡邊 琢夫 金沢大学, 医学系研究科, 助教授 (40303268)
Project Period (FY)	2002 – 2003
Project Status	Completed (Fiscal Year 2003)
Budget Amount *help	¥3,200,000 (Direct Cost: ¥3,200,000) Fiscal Year 2003: ¥1,200,000 (Direct Cost: ¥1,200,000) Fiscal Year 2002: ¥2,000,000 (Direct Cost: ¥2,000,000)

Keywords 酸素センサー / ヘム蛋白 / 蛋白プロファイリング / oxygen sensor / heme proteins / protein profiling / oxygen sensor

Research Abstract

本研究の目的は、細胞膜上にヘム蛋白性酸素感受性イオンチャンネルを持つPC12細胞を用い、その細胞膜画分のヘム蛋白をプロファイリングすることにより、新規酸素感受性分子(酸素センサー)を同定することである。

平成14年度中の研究により、Lithium Dodecyl Sulfate (LDS)を用いた低温下ポリアクリルアミドゲル電気泳動法(LDS-PAGE)と、ヘム分子団のペルオキシダーゼ様活性に基づきヘム蛋白を特異的に検出するルミノール化学発光反応を組み合わせた、高感度ヘム蛋白検出法を確立した。

平成15年度の研究は当初計画通りに遂行され、以下の成果を得た。

1.PC12細胞の粗精製細胞膜画分蛋白を低温下LDS-PAGEにより分離後、ルミノール化学発光反応液中でインキュベートしフルオログラフィーをとることにより、粗精製細胞膜画分に含まれるヘム蛋白のバンドを同定した。さらに、同一試料を並行して泳動したレーンをクマジーブリリアントブルーで染色することによって得られた全蛋白の染色バンドと、フルオログラム上のヘム蛋白のバンドの位置を比較することにより、ヘム蛋白を含むと推定される蛋白のバンドを同定した。

2.1.によって同定された蛋白のバンドを切り出し、そこに含まれる蛋白を、液体クロマトグラフィー・マスマスペクトロメトリー法によって同定した。その結果、約50種の蛋白が同定された。

3.現在、2.によって同定された蛋白の中から、構造や推定される機能などに基づいてヘム蛋白である可能性の高いものを抽出し、ヘムとの結合性を検討中である。すでに、ソーレーバンド(蛋白とヘムとの結合により見られる波長400nm付近の特異的吸収帯)などにより、ヘムとの安定した結合が確認されている蛋白もある。今後、これらの新規ヘム蛋白の機能の解析を進めていく予定である。

Report (2 results)

2003 Annual Research Report

2002 Annual Research Report

Research Products (37 results)

AllOther

AllPublications

[Publications] Yonekura, H.: "Novel splice variants of the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) expressed in human vascular endothelial cells and pericytes, and their putative roles in diabetes-induced vascular injury."Biochem.J.. 370(3). 1097-1109 (2003)

▼

[Publications] Watanabe, T.: "Preparation and characterization of recombinant protein phosphatase 1."Methods Enzymol.. 366. 321-338 (2003)

▼

[Publications] Young-Mi Kim: "PNUTS, a protein phosphatase 1 (PP1) nuclear targeting subunit."J.Biol.Chem.. 278(16). 13819-13828 (2003)

▼

[Publications] Miura, J.: "Serum levels of non-carboxymethyllysine advanced glycation endproducts are correlated to severity of microvascular complications in patients with Type 1 diabetes."J Diabetes Complications. 17(1). 16-21 (2003)

▼

[Publications] Sakurai, S.: "The AGE-RAGE system and diabetic nephropathy."J.Am.Soc.Nephrol.. 14(suppl.3). S259-S263 (2003)

▼

[Publications] Unoki, H.: "Up-regulation of cyr61 in vascular smooth muscle cells of spontaneously hypertensive rats."Lab. Invest. 83(7). 973-982 (2003)

▼

[Publications] Yonemura, Y.: "REG gene expression is associated with the infiltrating growth of gastric carcinoma."Cancer. 98(7). 1394-1400 (2003) ▼

[Publications] Miura, J.: "AGE down-regulation of monocyte RAGE expression and its association with diabetic complications in type 1 diabetes."J Diabetes Complications. 18(1). 53-59 (2004) ▼

[Publications] Ohashi, S.: "Advanced glycation end products increase collagen-specific chaperone protein in mouse diabetic nephropathy."J.Biol.Chem.. (In press). (2004) ▼

[Publications] Li, H.: "Possible participation of pICln in the regulation of angiogenesis through alternative splicing of VEGF receptor mRNAs."Endothelium. (In press). (2004) ▼

[Publications] Yamamoto, Y.: "Nurture vs. nature in diabetic vasculopathy : roles of advanced glycation endproducts and the receptor for them."International Congress Series. (In press). (2004) ▼

[Publications] 山本 博: "高血糖による酸化ストレスと血管障害機構"Medical Tribune. 36(49). 18-19 (2003) ▼

[Publications] 山本 靖彦: "AGE-RAGE"内科. 91(6). 1419-1420 (2003) ▼

[Publications] 渡邊琢夫: "糖尿病血管症の分子機構"生化学. 75(10). 1361-1370 (2003) ▼

[Publications] 竹内正義: "高血糖とAGE:新しい治療戦略"Bio Clinica. 18(7). 47-51 (2003) ▼

[Publications] 李 慧: "血管新生系制御"血管医学. 4(2). 41-46 (2003) ▼

[Publications] 徐 成金: "糖尿病血管合併症の環境因子と遺伝子"Diabetes Journal. 31(1). 1-6 (2003) ▼

[Publications] 山本 博: "医学のための基礎分子細胞生物学(pp2-3,pp34-39,pp86-87,pp90-91)"南山堂. 12 (2003) ▼

[Publications] 渡邊琢夫: "医学のための基礎分子細胞生物学(pp92-93,pp102-103)"南山堂. 4 (2003) ▼

[Publications] 山本 博: "医学大辞典(p84,p92,p809,p1111,p1213)"医学書院. 5 (2003) ▼

[Publications] 山本 博: "生体と電磁界(pp.51-75)"学会出版センター. 25 (2003) ▼

[Publications] Petrova, G.R.: "Advanced glycation endproduct-induced calcium handling impairment in mouse cardiac myocytes"J. Mol. Cell. Cardiol.. 34・10. 1425-1431 (2002) ▼

[Publications] Yamagishi, S.: "Advanced glycation end products-induced apoptosis and overexpression of vascular endothelial growth factor in bovine retinal pericytes"Biochem. Biophys. Res. Commun.. 290・3. 973-982 (2002) ▼

[Publications] Yonekura, H.: "RAGE engagement and vascular cell derangement by short chain sugar-derived advanced glycation endproducts"The Maillard Reaction in Food Chemistry and Medical Science : Update for The Postgenomic Era. 1245. 129-135 (2002) ▼

[Publications] Yamamoto, Y.: "The role of AGE-RAGE system in the development of diabetic nephropathy in vivo"The Maillard Reaction in Food Chemistry and Medical Science : Update for The Postgenomic Era. 1245. 45-50 (2002) ▼

[Publications] Sakurai, S.: "Identification of a novel AGE-capturable soluble variant of the receptor for AGE in human sera"The Maillard Reaction in Food Chemistry and Medical Science : Update for The Postgenomic Era. 1245. 163-167 (2002) ▼

[Publications] Yonekura, H.: "Novel splice variants of the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) expressed in human vascular endothelial cells and pericytes, and their putative roles in diabetes-induced vascular injury"Biochem. J.. 370・3. 1097-1109 (2003) ▼

[Publications] Miura, J.: "Serum levels of non-carboxymethyllysine advanced glycation endproducts and correlated to severity of microvascular complications in patients with Type 1 diabetes"J Diabetes Complications. 17・1. 16-21 (2003) ▼

[Publications] Miura, J.: "AGE downregulation of monocyte expression of RAGE mRNA and its association with diabetic complications in type 1 diabetes"J Diabetes Complications. (in press). (2003) ▼

[Publications] Unoki, H.: "Cyr61 upregulation in vascular smooth muscle cells of spontaneously hypertensive rats"Lab. Invest.. (in press). (2003) ▼

[Publications] Kim, Y.M.: "PNUITS, a protein phosphatase 1 (PP1) nuclear targeting subunit : Characterization of itsPP1-and RNA-binding domains and regulation by phosphorylation"J. Biol. Chem.. (in press). (2003) ▼

[Publications] 山本 靖彦: "Development and prevention of advanced diabetic nephropathy in RAGE-overexpressing mice"ゲノムニュース(文部科学省 科学研究費特定領域研究C「ゲノム」4領域広報委員会). 1(1). 32-33 (2002) ▼

[Publications] 山本 靖彦: "AGE-RAGE系を標的とした糖尿病血管障害抑制の可能性"日本薬理学会誌. 121(1). 49-56 (2003) ▼

[Publications] 山本 靖彦: "糖尿病学2002"診断と治療社. 4 (2002) ▼

[Publications] 大沢 真里: "Annual Review 2003 腎臓"中外医学社. 5 (2003) ▼

[Publications] 山田 外史: "生体と電磁界"学会出版センター. 25 (2003) ▼

[Publications] 山本 博: "医学のための基礎分子細胞生物学(第3版)"南山堂(in press). (2003) ▼

