癌の転移・浸潤に関わる膜結合型マトリックスメタロプロティナーゼの構造と機能解析

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2022-06-06 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Sato, Hiroshi メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00066205

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

癌の転移・浸潤に関わる膜結合型マトリックスメタロプロティナーゼの構造と機能解析

Research Project

All

Project/Area Number

07273225

Research Category

Grant-in-Aid for Scientific Research on Priority Areas

Allocation Type

Single-year Grants

Research Institution

Kanazawa University

Principal Investigator

佐藤 博 金沢大学, がん研究所, 助手 (00115239)

Project Period (FY)

1995

Project Status

Completed (Fiscal Year 1995)

Budget Amount *help

¥2,300,000 (Direct Cost: ¥2,300,000)
Fiscal Year 1995: ¥2,300,000 (Direct Cost: ¥2,300,000)

Keywords

転移 / 浸潤 / マトリックスメタロプロテイナーゼ / ゼラチナーゼA

Research Abstract

高転移性癌組織においてMMPによる組織破壊活性が高いことが知られている。我々は癌組織における特異的なゼラチナーゼA活性化に注目し、ゼラチナーゼA活性化に関わる遺伝子としてMT-MMPをクローニングした。本研究ではMT-MMPの構造と機能を解析すると共にMT-MMPを標的とした抗癌、抗転移剤開発のためのスクリーニング系を開発する事を目的とした。癌組織においてはゼラチナーゼA活性化と共に活性化型ゼラチナーゼAの癌細胞への特異的な結合が認められることからMT-MMPのゼラチナーゼAレセプターとしての機能を検討した。
I-125-標識ゼラチナーゼAとMT-MMP発現プラスミド導入細胞をインキュベイトし、細胞への結合、活性化をSDS-PAGEにより分析した結果、ゼラチナーゼAはMT-MMP発現細胞に特異的に結合し、引き続き中間体まで変換される事が明らかとなった。中間体から活性化型まではゼラチナーゼA自身の酵素活性を必要とする

ことから自己触媒的に変換されることが示唆された。一方で、リコンビナントMT-MMPタンパクによるゼラチナーゼA活性化反応の再構成実験を試みた。MT-MMPのキャタリティックドメインをグルタチオンSトランスフェラーゼとの融合タンパクとして大腸菌で発現させグルタチオンビーズゲルにより精製した。精製MT-MMP融合タンパクをゼラチナーゼAとインキュベイトしその後ゼラチンザイモグラフィーにより分析した。その結果MT-MMP融合タンパクによってゼラチナーゼAの特異的なプロセッシングが認められた。ゼラチナーゼAのAsn66-LeuをIle-Valに変換した変異体ではプロセッシングが起こらず、この部位で切断が起こることが示唆された。融合タンパクによるプロセッシングはMMPの特異的な阻害剤であるTIMP-2,BB-94により顕著に抑制されたことから、この系が阻害剤スクリーニングに有用であることが示された。

Report (1 results)

1995 Annual Research Report

Research Products (6 results)

All Other

All Publications (6 results)

[Publications] E.Lengyel,: "Induction of Mr 92,000 type IV collagenase expression in a squamous cell carcinoma cell line by fibroblasts." Cancer Research. 55. 963-967 (1995)

[Publications] T.Takino: "Cloning of a human gene potentially encoding a novel matrix metalloproteinase having a C-terminal transmembrane domain:" Gene. 155. 293-298 (1995)

[Publications] M.Yu: "Complex regulation of membrane-type metalloproteinase expression and matrix metalloproteinase-2 activation by concanavalin A in MDA-MB-231 human breast Cancer Cells" Cancer Research. 55. 3272-3277 (1995)

[Publications] H.Nomura: "Expression of membrane-type matrix metalloproteinase in human gastric carcinoma:" Cancer Research. 55. 3263-3266 (1995)

[Publications] S.J.Atkinson: "Intermolecular autolytic cleavage can contribute to the activation of progelatinase A by cell membranes:" J. Biol. Chem.270. 30479-30485 (1995)

[Publications] M.Yamamoto: "Differential expression of membrane-type matrix metalloproteinase and its correlation with gelatinase A activation in human malignant brain tumors in vivo and in vitro:" Cancer Research. 56. 384-392 (1996)

URL: https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-07273225/

Published: 1995-03-31 Modified: 2016-04-21