

# リソゾム膜上のH<sup>+</sup>ATPaseと2種の新規ATPaseー その構造と機能に関する生化学的研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2022-11-18 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Ohkuma, Shoji メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.24517/00067437">https://doi.org/10.24517/00067437</a>

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



# リソゾム膜上のH<sup>±</sup>ATPaseと2種の新規ATPase—その構造と機能に関する生化学的研究

Research Project

All

## Project/Area Number

03671047

## Research Category

Grant-in-Aid for General Scientific Research (C)

## Allocation Type

Single-year Grants

## Research Field

Biological pharmacy

## Research Institution

Kanazawa University

## Principal Investigator

大熊 勝治 金沢大学, 薬学部, 教授 (10119563)

## Co-Investigator(Kenkyū-buntansha)

清水 栄 金沢大学, 薬学部, 講師 (10110545)

木下 邦則 金沢大学, 薬学部, 教務職員 (20234320)

荒井 國三 金沢大学, 薬学部, 助手 (50126562)

## Project Period (FY)

1991

## Project Status

Completed (Fiscal Year 1991)

## Budget Amount \*help

¥2,500,000 (Direct Cost: ¥2,500,000)

Fiscal Year 1991: ¥2,500,000 (Direct Cost: ¥2,500,000)

## Keywords

リソゾム / プロトン・ポンプ / cDNAクローニング / 再構成 / 単クローン抗体 / ATPase / イオン・チャンネル

## Research Abstract

リソゾーム膜より, Mono Qカラム及びTSK-gel G4000SW<sub>XL</sub>を用いてH<sup>+</sup>-ATPaseを精製することに成功した。本酵素はSDS-PAGEで空胞系H<sup>+</sup>-ATPaseに共通にみられる(110,70,56,42,39,34,16kDa)のサブユニット構造を示した。至適pHは7.0-8.0。ATPに対するKm値は0.095mM、基質特異性はATP,dATP>GTP,ITP>UTPで、CTP,AMP,cAMPIは無効,ADPは阻害した。二価金属要求性はMg<sup>2+</sup>,Mn<sup>2+</sup>>Fe<sup>2+</sup>,Co<sup>2+</sup>>Ca<sup>2+</sup>で,Sr<sup>2+</sup>,Ba<sup>2+</sup>は無効、Cu<sup>2+</sup>,Pb<sup>2+</sup>,Zn<sup>2+</sup>,Hg<sup>2+</sup>,Cd<sup>2+</sup>,Ni<sup>2+</sup>は阻害した。Cl<sup>-</sup>,Br<sup>-</sup>,F<sup>-</sup>が活性化し、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>は強く阻害した。bafilomycin A<sub>1</sub>の他、NEM,NBD-Cl,DCCSに感受性であった。また,16kDaサブユニットに対するcDNAの単離,抗16kDa抗体の調製にも成功,これらプロト-プを用いた検討の結果,16kDa蛋白は腎臓と脳で極めて発現が高いこと,その遺伝子は複数存在することを明らかにできた。単クローン抗体も調製できたが,インムノブロットには成功していない。更に,可溶性H<sup>+</sup>-ATPaseを希釈法でリボソームに組み込み,プロトン・ポンプ再構成に成功した。この過程で,リソゾーム膜上にK<sup>+</sup>及びCl<sup>-</sup>に対するイオンチャンネルが存在することを示唆する結果を得た。

H<sup>+</sup>-ATPase以外の2種のATPaseについてもその性質を明らかにした。ATPaseII(360kDa)と類似のATPaseは,細胞膜上にecto-ATPaseとして存在する。両ATPaseを単離して比較した結果,至適pHとCa<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup>要求性が若干異なるものの,その他の性質(二価金属要求性,基質特異性,薬剤感受性<酸性で/バナジン酸感受性>等)は両酵素で極めて類似していることが確認された。NEM感受性のATPaseI(550kDa)は,ATPaseII共々リソゾームの内部に存在することが判明,顆粒の細胞内運動に関与したキネシンや膜融合に関与するNSFとの関係は否定された。

## Report (1 results)

1991 Annual Research Report

## Research Products (3 results)

All Other

All Publications (3 results)

[Publications] Kunizo Arai: "Isolation of highly purified lysosomes from rat liver:identification of electron carrier components on lysosomal membranes" J.Biochem.110. 541-547 (1991) ▼

[Publications] Hiro-omi Tamura: "Induction of neurite outgrowth of PC12 cells by an inhibitor of vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase,bafilomycin A<sub>1</sub>" FEBS Lett.294. 51-55 (1991) ▼

[Publications] Jun-ichi Nezu: "Molecular cloning of a rat liver cDNA encoding the 16 kDa subunit of vacuolar H<sup>+</sup>-ATPases:organellar and tissue distribution of 16 kDa proteolipids" J.Biochem.111. (1992) ▼

URL: <https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-03671047/>

Published: 1991-03-31 Modified: 2016-04-21