

ヒトニューロンにおけるコリンアセチルトランスフェラーゼ(ChAT)の細胞内局在-cDNAを用いて発現した組み換えヒトChAT蛋白に対する特異抗体を作成して-

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2022-07-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Oda, Yoshio メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00066696

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



ヒトニューロンにおけるコリンアセチルトランスフェラーゼ(ChAT)の細胞内局在-cDNAを用いて発現した組み換えヒトChAT蛋白に対する特異抗体を作成して-

Research Project

All

Project/Area Number

05670168

Research Category

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

Allocation Type

Single-year Grants

Research Field

Human pathology

Research Institution

Kanazawa University

Principal Investigator

小田 恵夫 金沢大学, 医学部, 助手 (70169316)

Project Period (FY)

1993

Project Status

Completed (Fiscal Year 1993)

Budget Amount [*help](#)

¥1,300,000 (Direct Cost: ¥1,300,000)

Fiscal Year 1993: ¥1,300,000 (Direct Cost: ¥1,300,000)

Keywords

Choline acetyltransferase / human / antibody

Research Abstract

I. ヒトChAT蛋白の発現と精製

ヒトChATcDNAの翻訳領域の約80%を、組換えタンパク質発現のためのベクター(pET-3c)に組み込み、大腸菌株BL21(DE3)に感染させた。cDNAがベクターに正しく組み込まれていることはシークエンスして確認した。形質転換大腸菌の培養液にイソプロピル- β -D-チオガラクトピラノシドを加えて蛋白を発現誘導し、これを電気泳動法(SDS-PAGE)により分離精製して最終的に約68kDのChAT蛋白を得た。

II. 組換えChAT蛋白に対する抗体作成

上記のようにして分離したChAT蛋白をフロインドのコンプリートアジュバントとともにウサギの皮内に3か月にわたってくりかえし免疫した。得られた抗体をELISA法で検定したところ、血清の希釈倍率で約40万倍の抗体価を認めた。

III. 作成抗体の特異性の検定

Western blot法とimmunoprecipitation法により、作成抗体は培養細胞で発現されたヒトChAT蛋白を認識し、また、ヒト剖検脊髄のホモジネート中のChAT活性を特異的に阻害することが確認された。

IV. ChAT蛋白の細胞内局在

剖検によって採取したヒト脊髄標本を用いて免疫組織化学を行ったところ、ChAT蛋白を保有しているといわれている前角の大型ニューロン(運動ニューロン)の細胞質が部分的に陽性に染色された。連続切片標本による観察では、ChAT蛋白は、しばしば、運動ニューロンの軸索小丘に局在していることが判明した。軸索小丘はリボソームを欠き蛋白の合成されない部位といわれている。したがって、ChAT蛋白は核周囲細胞質で合成された後、何らかの機序により軸索小丘へ輸送されてきたものと推測される。現在、免疫電顕を行ってChAT蛋白と細胞内小器官との関連を解析している。

Report (1 results)

1993 Annual Research Report

URL: <https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-05670168/>

Published: 1993-03-31 Modified: 2016-04-21