膜結合性ATPoseからみたリソゾ-ムとペルオキシゾ-ムの蛋白質輸送機構

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2022-11-21 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大熊, 勝治, Ohkuma, Shoji メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00067417

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

膜結合性ATPoseからみたリソゾ-ムとペルオキシゾ-ムの蛋白質輸送機構

Research Project

All

Project/Area Number

03264208

Research Category

Grant-in-Aid for Scientific Research on Priority Areas

Allocation Type

Single-year Grants

Research Institution

Kanazawa University

Principal Investigator

大熊 勝治 金沢大学, 薬学部, 教授 (10119563)

Co-Investigator(Kenkyū-buntansha)

木下 邦則 金沢大学, 薬学部, 教務職員 (20234320)
清水 栄 金沢大学, 薬学部, 講師 (10110545)
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

¥1,500,000 (Direct Cost: ¥1,500,000)
Fiscal Year 1991: ¥1,500,000 (Direct Cost: ¥1,500,000)

Keywords

リソゾ-ム / ペルオキシゾ-ム / プロトン・ポンプ / ATPase / 再構成 / cDNAクロ-ニング / クロフィブレ-ト

Research Abstract

リソゾ-ム膜より,Mono Qカラム及びTSK-gel G4000SW_<XL>を用いてH^+ーATPaseを精製することに成功.本酵素はSDSーPAGEで空胞系H^+ーATPaseに共通にみられるサブユニット構造を示し,至適pHは7.0ー8.0、CI^-,Br^-,F^-が活性化し、NO_3^-は強く阻害した。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した。単クロ-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,可溶化H^+ーATPaseを希釈法でリポソ-ムに組み込み,プロトン・ポンプ再構成に成功した。
一方,ATPaseII(360kDa)と細胞膜上のectoーATPaseの両者を単離して比較した結果,至適pHとCa^<2+>/Mg^<2+>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,薬剤感受性等)は両酵素で極めて類似していることが確認された。しかし,NEM感受性のATPaseI(550kDa)共々リソゾ-ムの内部に存在することが判明,顆粒運動(キネシン様ATPase),膜融合(NSF),蛋白質輸送との関係は否定された。
一方,クロフィブレ-トを投与したラットの肝臓ペルオキシゾ-ム膜上には,NEM感受性ATPaseとNEM非感受性ATPaseの2種類のATPase活性が誘導される。 NEM感受性ATPase(520kDa)はATPに対するKm値が780μMで,DIDS,STA,DCCD,TBT,quercetinに感受性を示した。一方のNEM非感受性ATPase(450kDa)は,STA以外の阻害剤に非感受性であった。NEM感受性ATPase(約270ー360kDa)はproteinaseーK耐性であり,また, NEM感受性ATPaseも抗PMP70IgGにより免疫沈降できないことから,両ATPaseともPMP70とは異なることが判明した。NEM感受性ATPaseはその薬剤感受性から基質輸送に働いている可能性が高い。これらのATPaseのが蛋白質の輸送に如何に関与するか,今後その可能性を明らかにしていきたい。

Report (1 results)

1991 Annual Research Report

Research Products (3 results)

All Other

All Publications (3 results)

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

[Publications] Hiroーomi Tamura: "Induction of neurite outgrowth of PC12 cells by an inhibitor of vacuolar H^+ーATPase,bafilomycin A_1" FEBS Lett.294. 51-55 (1991)

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

URL: https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-03264208/

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