

# 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: jpn 出版者: 公開日: 2022-11-21 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/10.24517/00067417">https://doi.org/10.24517/00067417</a>

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



# 膜結合性ATPaseからみたリソゾームとペルオキシソー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

リソゾーム / ペルオキシソーム / プロトン・ポンプ / ATPase / 再構成 / cDNAクローニング / クロフィブレート

## Research Abstract

リソゾーム膜より, Mono Qカラム及びTSK-gel G4000SW\_<XL>を用いてH<sup>+</sup>-ATPaseを精製することに成功. 本酵素はSDS-PAGEで空胞系H<sup>+</sup>-ATPaseに共通にみられるサブユニット構造を示し, 至適pHは7.0-8.0. 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. 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. 単クローン抗体も調製できたが, イムノブロットには成功していない. 更に, 可溶性H<sup>+</sup>-ATPaseを希釈法でリソゾームに組み込み, 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-ATPaseの両者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)共々リソゾー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,クロフィブレートを投与したラットの肝臓ペルオキシゾーム膜上には,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—360kDa)はproteinase-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 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\_1" 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-03264208/>

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