

リソゾム膜上のH[±]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	https://doi.org/10.24517/00067437

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



リソゾム膜上のH⁺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

リソソーム膜より, Mono Qカラム及びTSK-gel G4000SW_{XL}を用いてH⁺-ATPaseを精製することに成功した。本酵素はSDS-PAGEで空胞系H⁺-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Mg²⁺,Mn²⁺>Fe²⁺,Co²⁺>Ca²⁺で,Sr²⁺,Ba²⁺は無効、Cu²⁺,Pb²⁺,Zn²⁺,Hg²⁺,Cd²⁺,Ni²⁺は阻害した。Cl⁻,Br⁻,F⁻が活性化し、NO₃⁻は強く阻害した。bafilomycin A₁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,インムノプロットには成功していない。更に,可溶化H⁺-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,リソソーム膜上にK⁺及びCl⁻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⁺-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Ca²⁺/Mg²⁺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共々リソソ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係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⁺-ATPase,bafilomycin A₁" 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⁺-ATPases:organellar and tissue distribution of 16 kDa proteolipids" J.Biochem.111. (1992) 

URL:

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