

細胞膜受容体の分子挙動と細胞応答の統合的測定技術の開発

著者	渡邊 琢夫
著者別表示	Watanabe Takuo
雑誌名	平成18(2006)年度 科学研究費補助金 特定領域研究 研究実績の概要
巻	2006
ページ	2p.
発行年	2018-03-28
URL	http://doi.org/10.24517/00060174

[◀ Back to previous page](#)

細胞膜受容体の分子挙動と細胞応答の統合的測定技術の開発

Research Project

Project/Area Number	18038017
Research Category	Grant-in-Aid for Scientific Research on Priority Areas
Allocation Type	Single-year Grants
Review Section	Science and Engineering
Research Institution	Kanazawa University
Principal Investigator	渡辺 琢夫 金沢大学, 医学系研究科, 助教授 (40303268)
Co-Investigator(Kenkyū-buntansha)	米倉 秀人 金沢医科大学, 医学部, 教授 (80240373)
Project Period (FY)	2006
Project Status	Completed (Fiscal Year 2006)
Budget Amount *help	¥1,900,000 (Direct Cost: ¥1,900,000) Fiscal Year 2006: ¥1,900,000 (Direct Cost: ¥1,900,000)
Keywords	FRET / 細胞膜受容体 / オリゴマー化 / RAGE / 1分子FRET / NFκB

Research Abstract

1.細胞表面受容体のオリゴマー化モニタリング系の開発
細胞膜受容体であるRAGE (receptor for advanced glycation endproducts)をモデルとし、2分子FRET法により受容体オリゴマー化をモニタリングする技術を確認した。これにより、受容体の蛍光タンパク融合組換え体を作製することなくFRETでオリゴマー化をモニタリングすることが可能となった。(1)RAGE細胞外ドメインに結合し、かつRAGEとリガンドとの結合を阻害しないモノクローナル抗体を作製し、FRETのドナーとアクセプターの対をなす2種の蛍光色素で標識した。(2)RAGE過剰発現細胞株の培養液中に上記の2種の蛍光標識抗体を加え、生細胞表面のRAGEを蛍光標識し、RAGEのオリゴマー化をFRETシグナルの変化を測定することによりモニタリングした。(3)その結果、リガンド刺激後20分をピークとするFRETシグナルの上昇が検出され、本技術の有効性が示された。

2.1分子FRET法による細胞内シグナルモニタリングと受容体発現量の相関関係の解析
細胞内シグナル強度のモニタリングと、受容体の発現量解析を同時に行うことにより、受容体発現量とシグナル強度の相関解析が可能な系を開発した。(1)NFκBの活性化によりβ-ラクタマーゼを発現するレポーター遺伝子を組み込んだ細胞株に、RAGE発現ベクターを導入した。(2)上記細胞にβ-ラクタマーゼによる分解で分子内FRETが消失する蛍光色素分子を取り込ませ、FRETシグナルによりNFκB活性化を検出すると同時に、蛍光抗体でRAGEを標識し発現量を測定した。(3)その結果、RAGE発現量が中程度の細胞において最も強くNFκBが活性化されており、発現量が過剰な細胞ではむしろ活性化の程度が低いことが明らかとなった。

Report (1 results)

2006 Annual Research Report

Research Products (10 results)

	All	2007	2006	2002
	All	Journal Article	Patent(Industrial Property Rights)	
[Journal Article] Endogenous secretory receptor for advanced glycation endproducts levels are correlated with serum pentosidine and CML in patients with type 1 diabetes.				2007 ▼
[Journal Article] Endogenous Secretory Receptor for Advanced Glycation Endproducts - a Novel Prognostic Marker of Chondrosarcomas.				2007 ▼
[Journal Article] Short-chain aldehyde-derived ligands for RAGE and their actions on endothelial cells.				2007 ▼
[Journal Article] Assaying soluble forms of receptor for advanced glycation endproducts.				2007 ▼
[Journal Article] Identification of mouse orthologue of endogenous secretory receptor for advanced glycation end-products : structure, function and expression.				2006 ▼
[Journal Article] Development of an ELISA for eRAGE and its application to type 1 diabetic patients.				2006 ▼
[Journal Article] Receptor for advanced glycation end products is involved in impaired angiogenic response in diabetes.				2006 ▼
[Journal Article] RAGE control of diabetic nephropathy in a mouse model : effects of RAGE gene disruption and administration of low-molecular weight heparin.				2006 ▼

[Patent(Industrial Property Rights)] アルツハイマー病の診断方法

2006 ▾

[Patent(Industrial Property Rights)] 可溶性RAGEタンパク質

2002 ▾

URL:

Published: 2006-03-31 Modified: 2018-03-28