

リソソームのホモテピックルな膜融合機構の解析

著者	新井 國三
著者別表示	Arai Kunizo
雑誌名	平成9(1997)年度 科学研究費補助金 萌芽的研究 研究概要
巻	1997
ページ	2p.
発行年	2016-04-21
URL	http://doi.org/10.24517/00066036



リソソームのホモテピカルな膜融合機構の解析

Research Project

All

Project/Area Number

09877434

Research Category

Grant-in-Aid for Exploratory Research

Allocation Type

Single-year Grants

Research Field

Biological pharmacy

Research Institution

Kanazawa University

Principal Investigator

新井 國三 金沢大学, 薬学部, 助手 (50126562)

Co-Investigator(Kenkyū-buntansha)

大熊 勝治 金沢大学, 薬学部, 教授 (10119563)

Project Period (FY)

1997

Project Status

Completed (Fiscal Year 1997)

Budget Amount *help

¥1,600,000 (Direct Cost: ¥1,600,000)

Fiscal Year 1997: ¥1,600,000 (Direct Cost: ¥1,600,000)

Keywords

リソソーム / 膜融合 / N-エチルマレイミド / GTPγS / ウォルトマニン

Research Abstract

リソソームの主たる役割である様々な生体内高分子の分解の際、リソソームにタンパク質が移行する重要なステップは、基質タンパク質を含む膜小胞がリソソームと融合して、その内容物をリソソームへ受け渡すことである。そこで本研究ではホモタイプリソソーム間膜融合に注目し、そのin vitroのアッセイ系の確立を試みた。リソソーム膜融合の検出には、抗原抗体複合体形成を利用した。抗原としてFluorescein isothiocyanate(FITC)を西洋わさびペルオキシダーゼ(horseradish peroxidase:HRP)で標識したもの、抗体として抗FITC抗体を用いた。またリソソームへのリガンドの取り込み効率を上げるため、それぞれをアシアロフェチンまたはガラクトースで修飾した。両リガンドを取り込んだリソソームの調製は、それぞれのリガンドを別々のマウスに静脈内投与した後、40分後に肝臓からパーコール密度勾配遠心法を用いた。このリガンドを取り込ませたリソソームを試験管の中でサイトソル、ATP存在下、37℃でインキュベートした。その後、融合によって形成した抗原抗体複合体をprotein A-Sepharoseで回収し、そのHRP活性を発光法によって測定しリソソーム膜融合の指標とした。

その結果、リソソームの膜融合はエンドソームやゴルジ体の膜融合反応と同じ温度依存性を示し20℃以下では起こらなかった。さらに、サイトソル、ATP濃度依存性を示し、膜融合阻害剤として用いられているN-エチルマレイミドおよびGTγSに対する感受性も示した。また、リソソーム膜融合は、エンドソーム膜融合にはみられないGTP要求性を示した。In vivo系においてリソソーム酵素のリソソームへの輸送の阻害や、リソソームの形態変化を起こすことが報告されているウォルトマニンやノコダゾールに対する感受性を検討した結果、リソソーム膜融合はウォルトマニンで阻害されたが、ノコダゾールでは阻害されなかった。従って、in vitroにおけるリソソーム膜融合には、PI3キナーゼが関与するが、細胞骨格は関与しない可能性が示唆された。

Report (1 results)

1997 Annual Research Report

Research Products (1 results)

All Other

All Publications (1 results)

[Publications] KUNIZO ARAI: "ARF-induced lysosomal lysis in vitro" Journal of Biochemistry. 122 · 4(in press). (1998)



URL: <https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-09877434/>

Published: 1997-03-31 Modified: 2016-04-21