

29【P2】Ⅲ-252

蛍光を用いたオートファジーによる各オルガネラ分解の検討

○河合 昭典¹, 高野 秀一², 大熊 勝治^{1,2} (¹金沢大・自然科学研究科,²金沢大・薬)

【目的】オルガネラはオートファジーによって分解される。その分解は従来から電子顕微鏡によって観察された。しかし、その分解速度や、如何に分解されるか、また制御されているかは不明である。本研究ではこれらの疑問を検討した。

【方法】ミトコンドリア移行シグナルを持つ GFP (pOTC-GFP) を発現させた CHO-K1 細胞 (mGFP CHO 細胞) を作製し、オートファジーによるミトコンドリアの分解と飢餓時間との関係を調べた。飢餓時間依存的に蛍光顕微鏡での蛍光観察、蛍光光度計を用いた蛍光強度測定、Immunoblot による GFP の検出を行った。また、ペルオキシソームについても、SKL シグナルをもつ GFP を発現させた細胞を作製し、同様の分析を行った。さらに、サイトゾルやアクチンの飢餓時間依存的変化とも比較した。また、タンパク質分解阻害剤を用いて、各オルガネラ分解に対する各タンパク質分解系の重要性を検討した。

【結果と考察】蛍光顕微鏡観察において、mGFP の蛍光は飢餓時間依存的に減少した。Immunoblot の結果、この蛍光の消失が GFP 自身の消失であることが確認された。蛍光強度測定においても、飢餓時間依存的に緩やかに蛍光強度は減少した。また、この減少は 3-MA 存在下で阻害された。これらのことから飢餓状態の哺乳動物細胞においてミトコンドリアはオートファジーによって緩やかに分解されることが示された。また、ペルオキシソーム、サイトゾル、アクチンについても飢餓時間依存的に緩やかな減少がみられた。各タンパク質分解阻害剤処理時との比較について現在検討中であり、これらについても報告したい。