■ 12 章 ■

1. George Palade と共同研究者は，膵腺房細胞に放射標識したアミノ酸をパルスで加えることでタンパク質を標識した．オートラジオグラフィーによって，標識されたタンパク質ははじめ小胞体に確認された．その後，非標識のアミノ酸でチェースすると，標識タンパク質はゴルジ体に検出され，さらに長い時間チェースすると分泌小胞，そして細胞外へと標識タンパク質は検出された．
2. 細胞質側で合成された脂質が内腔側へと運ばれないために，膜が壊れることが予想される．
3. KDEL 配列に変異が導入されると，小胞体タンパク質がゴルジ体から小胞体へ戻れなくなるため，細胞から分泌されると予想される．KDEL 受容体を不活性化させると，すべての KDEL 配列をもつ小胞体タンパク質が分泌されると考えられる．
4. 細胞質に存在するタンパク質が分泌経路に入ることはないため，リソソーム標的化シグナルを付加させても影響はないと考えられる．分泌タンパク質にリソソーム標的化シグナルを付与すれば，リソソームへと局在化すると考えられる．
5. 極性細胞の細胞膜のそれぞれの部位では異なった機能を担っている．よって膜タンパク質を正しく標的化することが重要となる．
6. 分泌タンパク質に GFP を融合することで，生きた細胞内のタンパク質の動きを蛍光顕微鏡によって追うことができる．
7. Rab ファミリーの G タンパク質は，小胞と標的膜を橋渡しする特異的な係留因子と結合することで，小胞融合の特異性を決めている．
8. リソソームへと運ばれる酵素は酸性加水分解酵素であり，細胞質や小胞体，ゴルジ体などの中性付近の pH では活性化されない．リソソームにはプロトンポンプが存在するため酸性に保たれており，酸性加水分解酵素は活性化できる．
9. エンドサイトーシスされた物質がリソソームへと輸送されることによって，補充療法として外側から添加されたタンパク質（たとえばグルコシルセラミダーゼ）をリソソームへと輸送することができる．
10. アクチンフィラメントは長寿命なタンパク質であり，オートファジーによってゆっくりと入れ替わる．一方で，転写因子はユビキチン–プロテアソーム経路によって分解が制御されている．

Key Experiment　シグナル仮説

骨髄腫細胞は多くのタンパク質を分泌するためにこのような実験に有用である．膵腺房細胞も同様に有用な細胞であると考えられる．

Molecular Medicine　ゴーシェ病

I 細胞病は，すべての酸性加水分解酵素をリソソームへ標的化するのに必要なゴルジ酵素が欠失

しているため，リソソームタンパク質がまったく機能しなくなる．よってリソソームへある一つの酵素を補充するのみでは治療されない．

データ解析問題 12　ハチ毒タンパク質の合成と翻訳後修飾の運命

1. この *in vitro* 転写システムでは，新たに合成されたタンパク質は[^{3}H]プロリンおよび[^{35}S]メチオニンを取込んでいるため，オートラジオグラフィーで検出できる．SDS–PAGE によって，タンパク質は分子量に応じて分離される．小さなタンパク質ほどより早く陽極へと流れる．したがって pPM のバンドに存在するタンパク質の分子量は PM のバンドに存在するものよりも大きい．
2. 粗面小胞体由来ミクロソームの存在下である試料 1 では，大きなタンパク質のバンド（pPM）と小さなタンパク質のバンド（PM）の両者が検出されたが，粗面小胞体由来ミクロソームを添加していない試料 2 では，大きなタンパク質のバンド（pPM）のみ検出された．試料 1 では新しく合成されたタンパク質である pPM はミクロソームに局在化することで，恐らくシグナル配列が分解を受け，結果として小さいタンパク質（PM）が生成されたと考えられる．
3. シクロヘキシミドを添加することによってタンパク質合成が阻害された試料 3 では，すでに合成されていたタンパク質（pPM）はミクロソームへ局在化できず，PM タンパク質は合成されなかったと考えられる．したがって，プロメリチンのミクロソームへの局在化は翻訳と共役して起こると考えられる．
4. SRP 受容体の阻害剤を添加した試料 4 では，新しく合成されたタンパク質のミクロソームへの局在化は阻害される．これはミクロソームへの局在化には，SRP–SRP 受容体が必要であるからである．
5. プロテイナーゼ K を添加した試料 5 では，新しく合成されたタンパク質（pPM）は分解され，バンドが消失している．このことは，SRP 受容体の阻害剤を添加した状態では，新しく合成されたタンパク質はミクロソームの外側に存在したままであることを意味している．