

ファゴサイトーシスと親びん

代表 石川

助手 多田

おやび〜ん



© タツノコプロ・読売テレビ 2008

Endocytosis

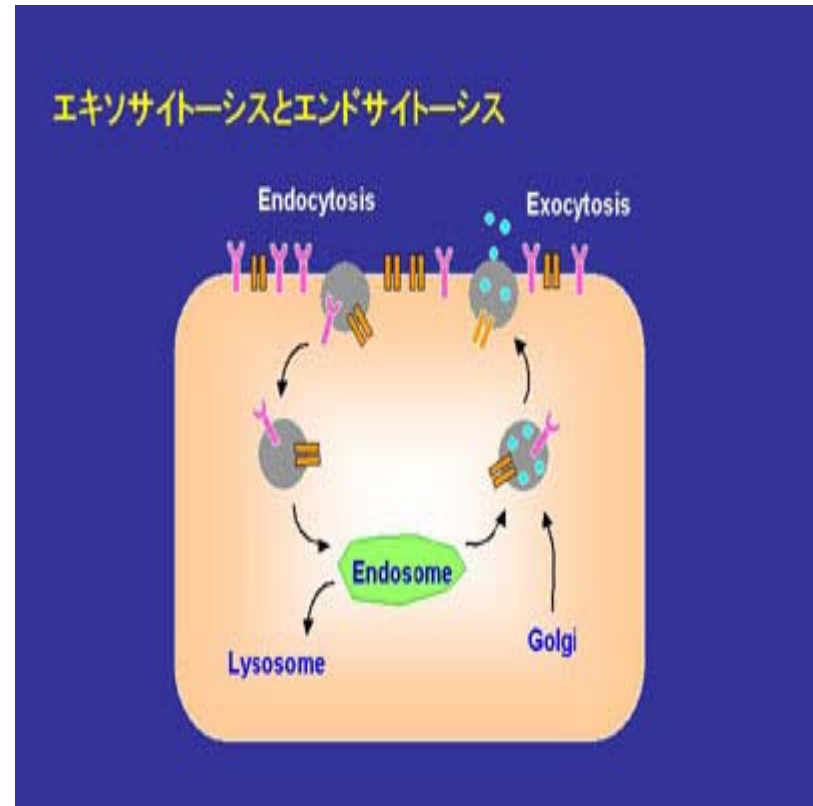
Endocytosis — Phagocytosis
Pinocytosis

- Phagocytosis

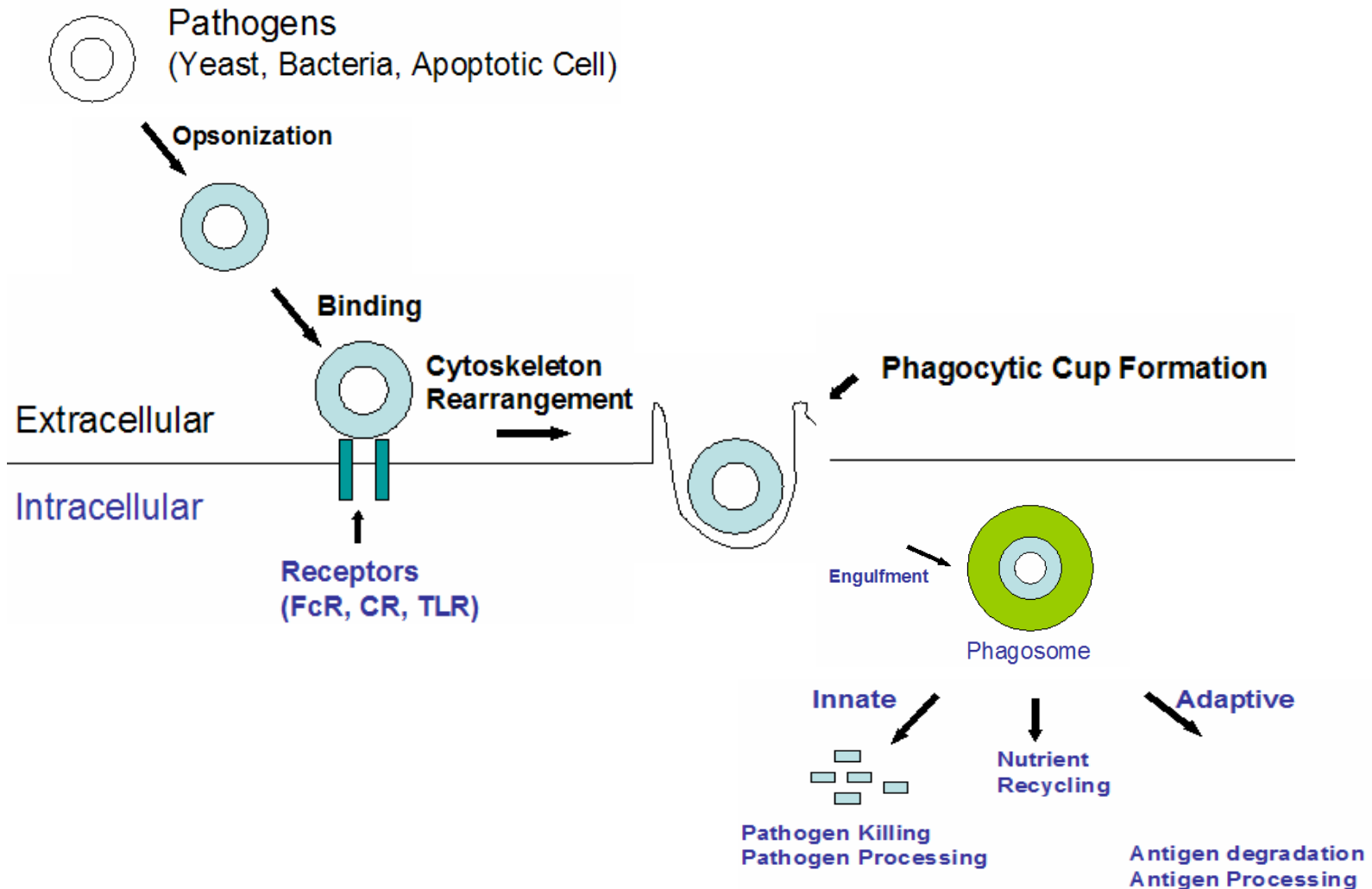
病原体などの大きい物質を取り込む。好中球、単球、MΦ（食作用）

- Pinocytosis

細胞外液を取り込む。食細胞以外の細胞でも発達（飲作用）



Phagocytosis



Phagocytic Receptor

- Fc receptor(FcR)

免疫グロブリン(抗体)分子のFc部位に対する受容体タンパク質

- Toll-like receptor(TLR)

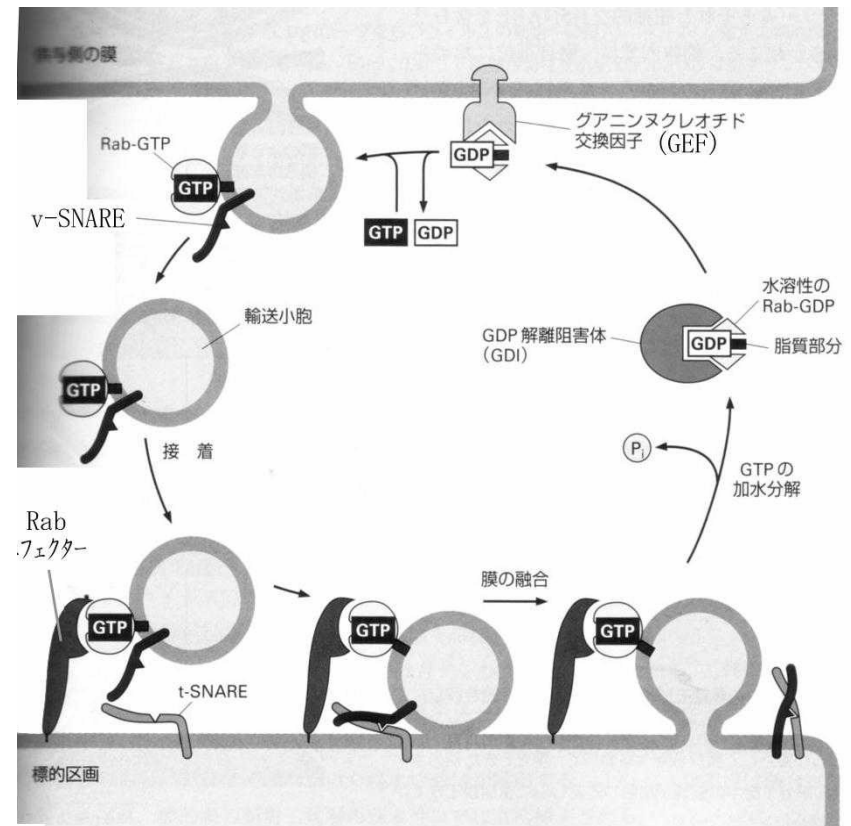
細胞表面にある受容体タンパクで自然免疫を作用させる。TLR2がZymosanAの β -グルカンを認識

- Complement receptor(CR)

C3によってオプソニン化された抗原を認識

Rab Family

- 低分子量G蛋白質
- 細胞内の特定の膜系に局在し、その部位での小胞輸送を制御
- Rab-GTP (活性型)
Rab-GDP (不活性型)
- Rab35: サイトゾルに局在
→ 膜にリクルートされる
→ 膜に集中する
(江上先生のお話より)



実験の目的

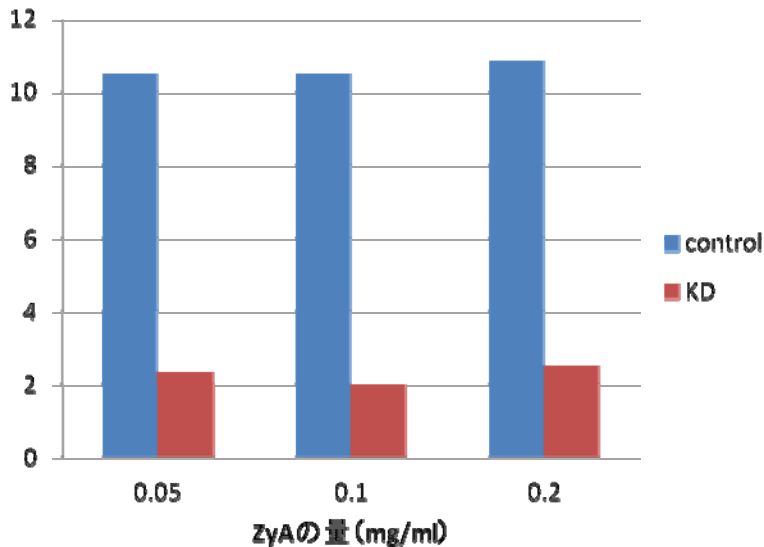
- IgG-opsonized赤血球の貪食において、Rab35の関与が示されている。
⇒他のレセプターを介する経路では??
 - 1) ControlとRab35KDのそれぞれの細胞のZyAの貪食を定量化し、その違いを観察する。
 - 2) C3-opsonized ZyAを与え、C3-opsonizedしていない場合と比較する。
 - 3) GFP-Rab35を用いて、貪食の際のRab35の局在変化を観察する。

実験のための条件設定

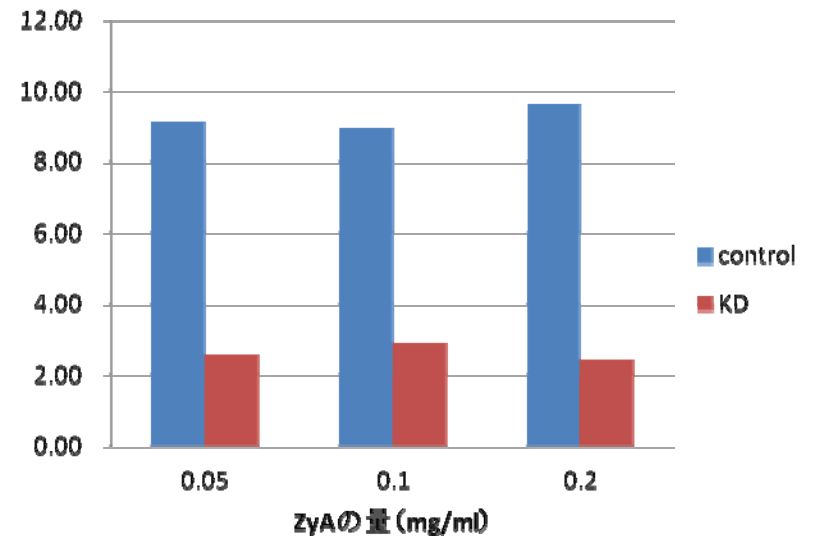
実験結果 $1.0 \times 10^5/\text{well}$

実験結果 $2.0 \times 10^5/\text{well}$

ZyAの取り込み(個)



ZyAの取り込み(個)



実験1

- 条件：細胞数 1.0×10^5 /well、ZyA0.05mg/ml
- 手順：control・3well、KD・3wellに、細胞をまき、ZyAを加え、30分間貪食させた。



ControlとKDの比較

control

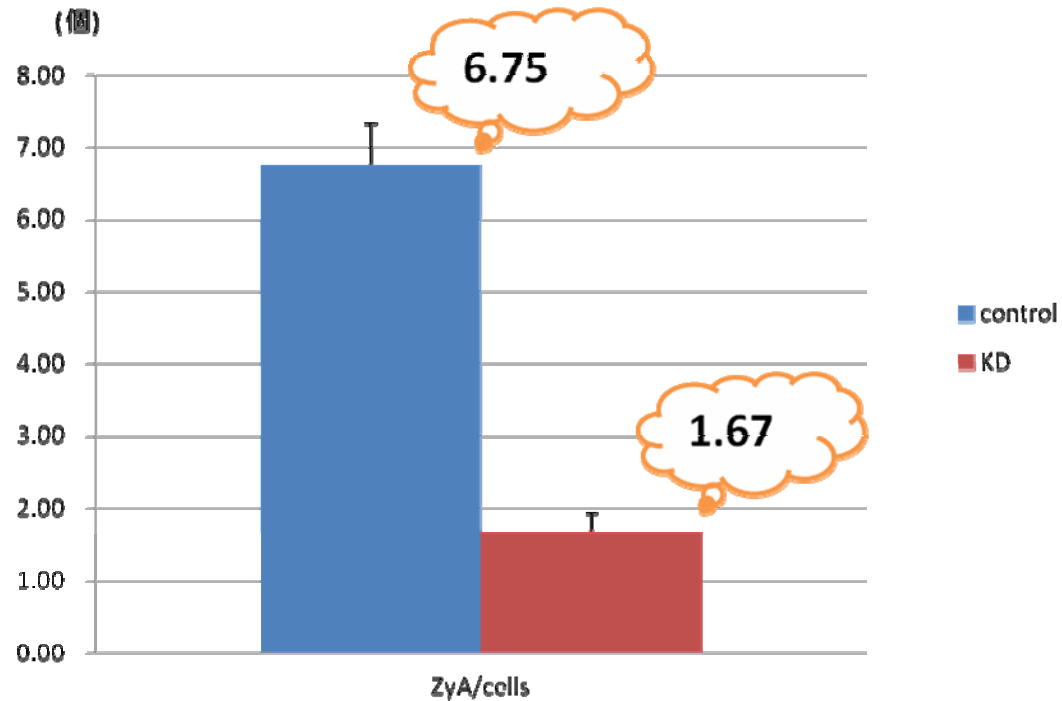


Rab35KD



結果と考察(実験1)

実験1の結果



結果と考察(実験1)

- 実験1より、
Rab35KDでは、controlに比べて、ZyAの貪食量が75%程度減少した。
⇒ Rab35はZyAの貪食に関与していると思われる。

細胞、
ZyA食べ過ぎ~

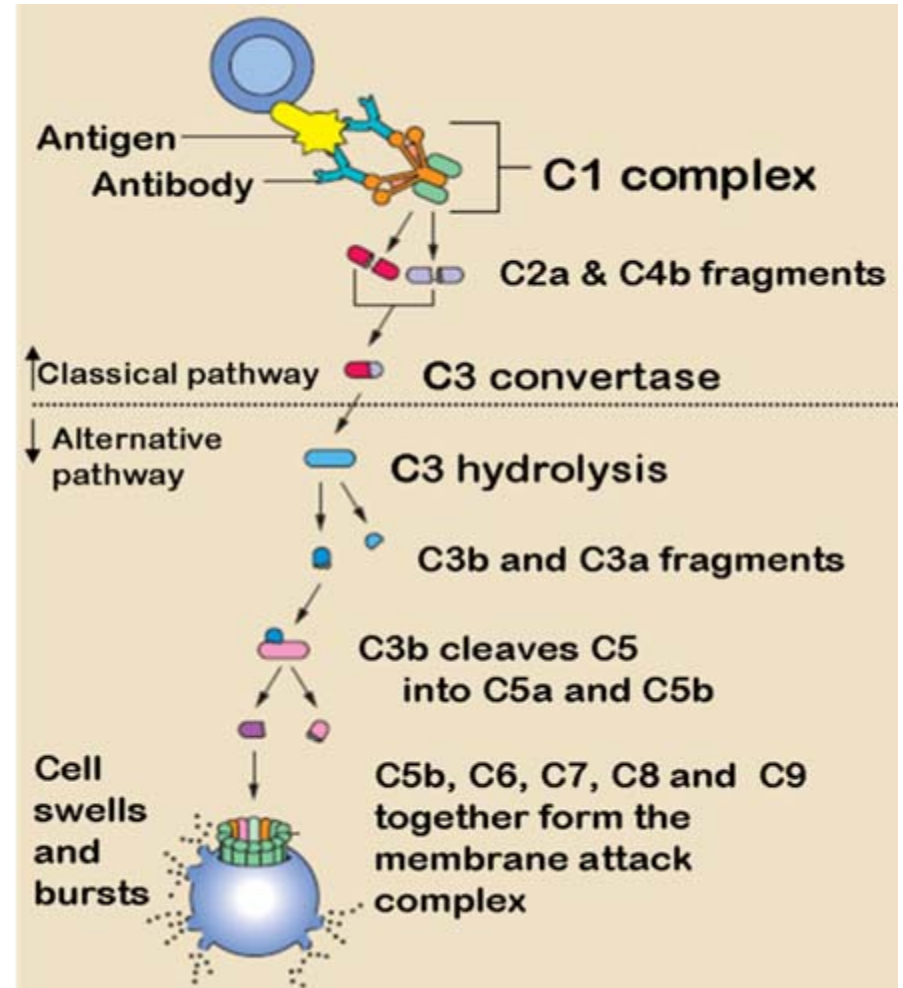


Complement

- C3b

オプソニン化により
貪食作用を促進させる

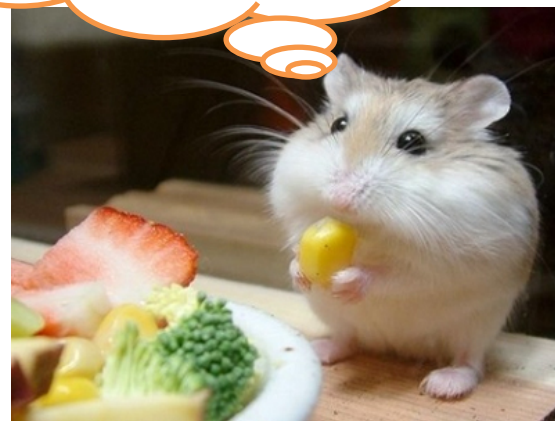
補体系の古典経路および副経路 ⇒



実験2

- 条件:細胞数 1.0×10^5 /well
ZyA0.05mg/ml
- 手順:
ZyAをマウスの血清でC3オプソニン化し、control・3well、KD・3wellにそれぞれ加える。
そして、同条件で行ったC3-opsonized(-) ZyAを加えたウェルと比較する。

Rab注入~??



ControlとKDの比較・C3-opsonized(+)

control

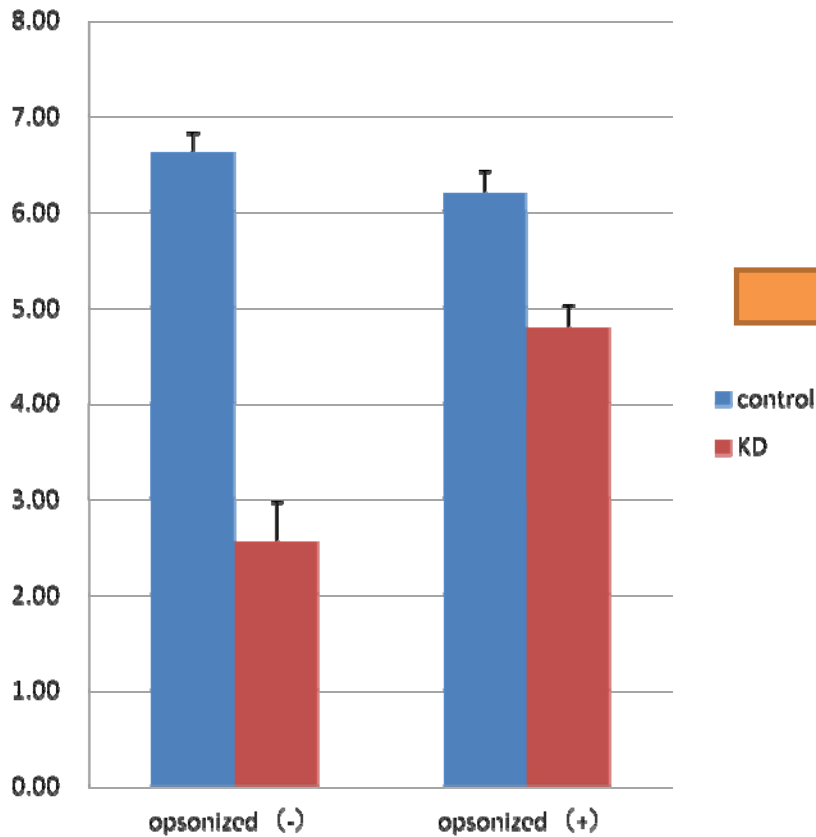


Rab35KD

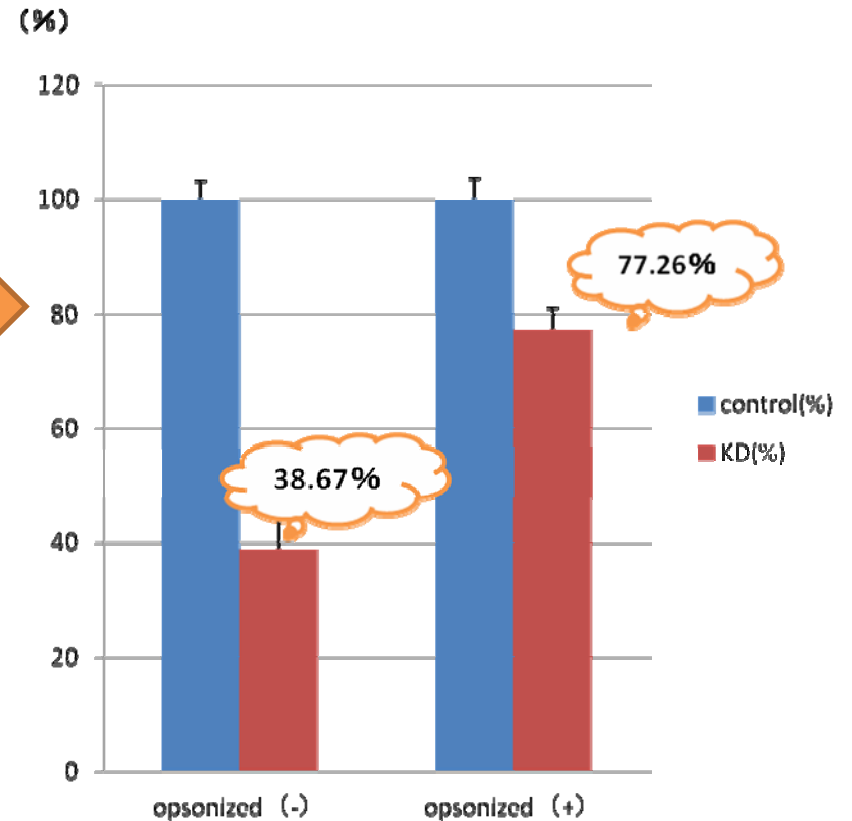


結果と考察(実験2)

C3-opsonized(+),(-)の比較



controlを基準とした割合での比較



結果と考察(実験2)

- 実験2より、
Rab35KDのC3-opsonized(+)ZyAの貪食量は、C3-opsonized(-)に比べて増加した。
⇒C3-opsonised(+)の貪食には、Rab35が関与していないことが示唆された。

まだ終わらないの
かよ… by多田



実験3

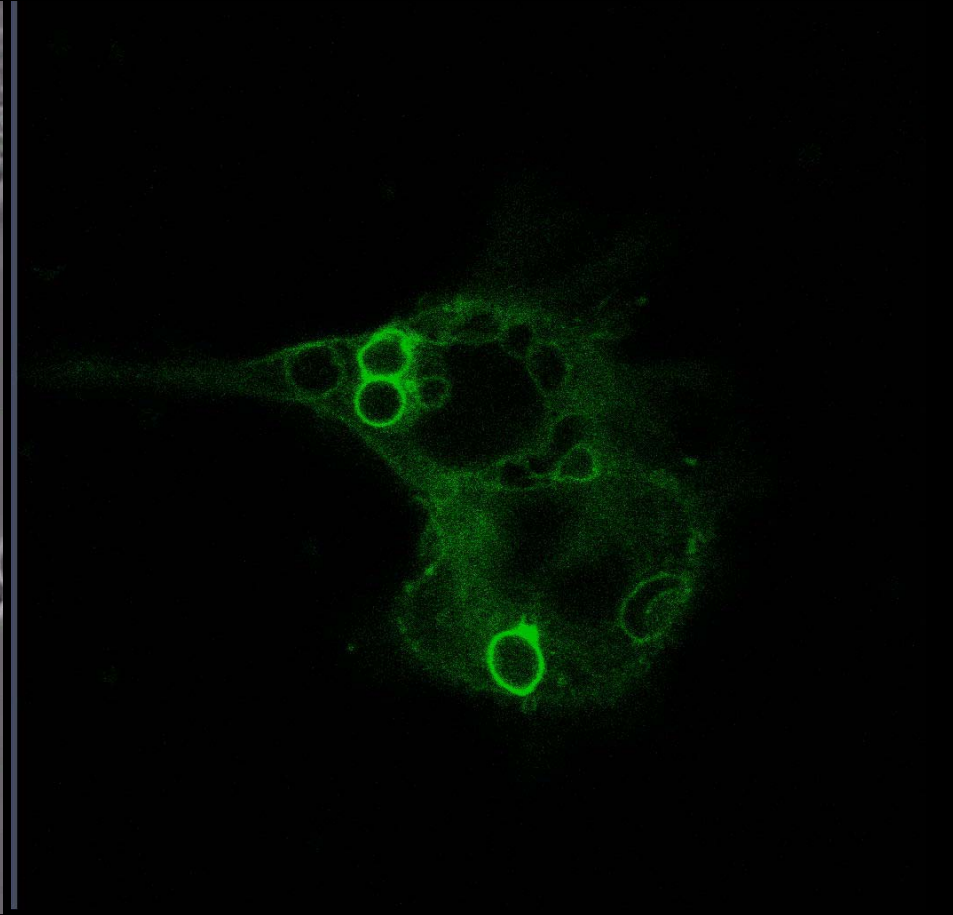
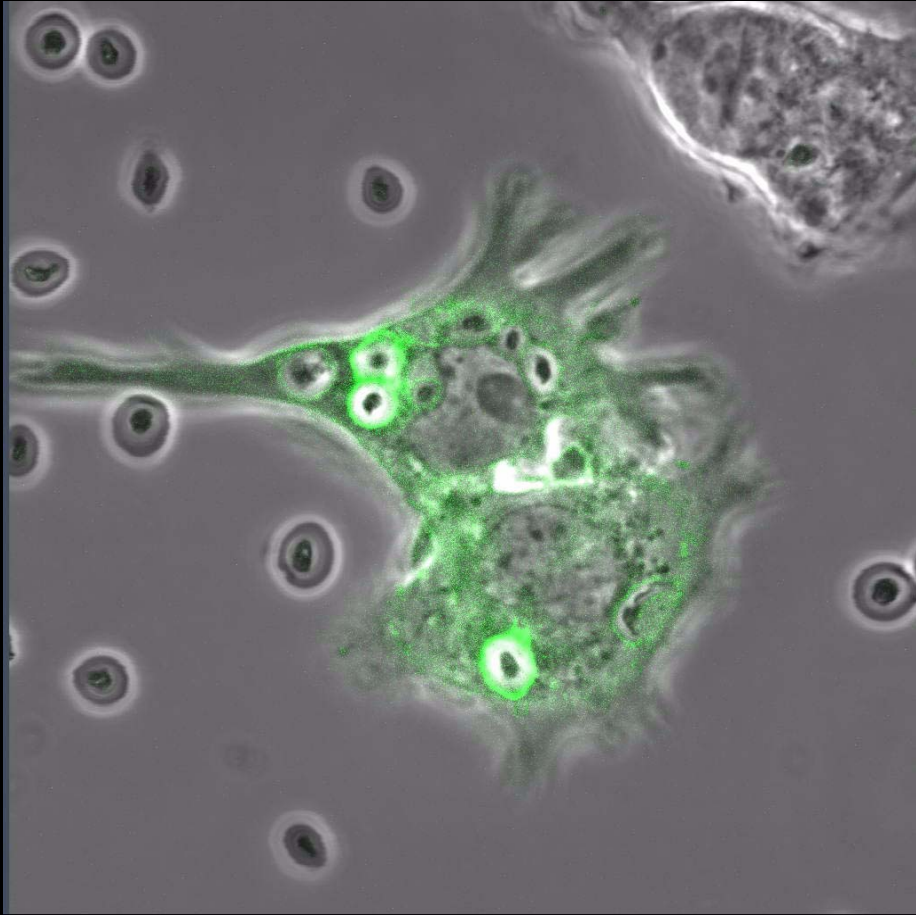
実験2では、C3-opsonized(+)**ZyA**の貪食に Rab35が関与していないことが示唆された。

⇒ C3-opsonized (+/-) **ZyA**の取り込みの際の GFP-Rab35の局在変化に差があるかどうかを観察する。

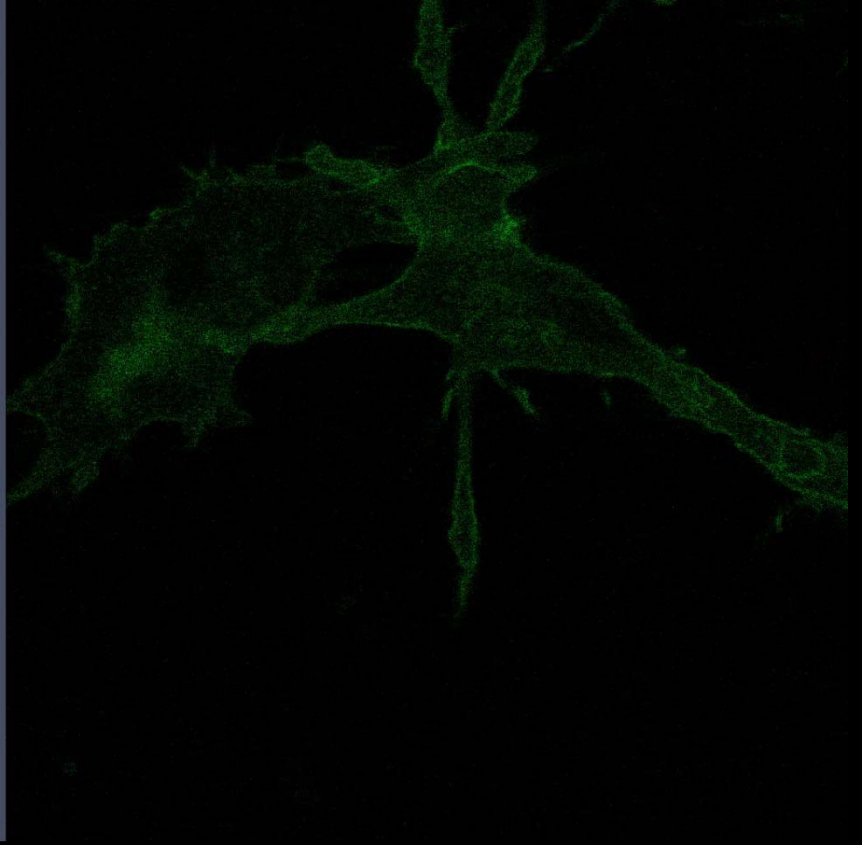
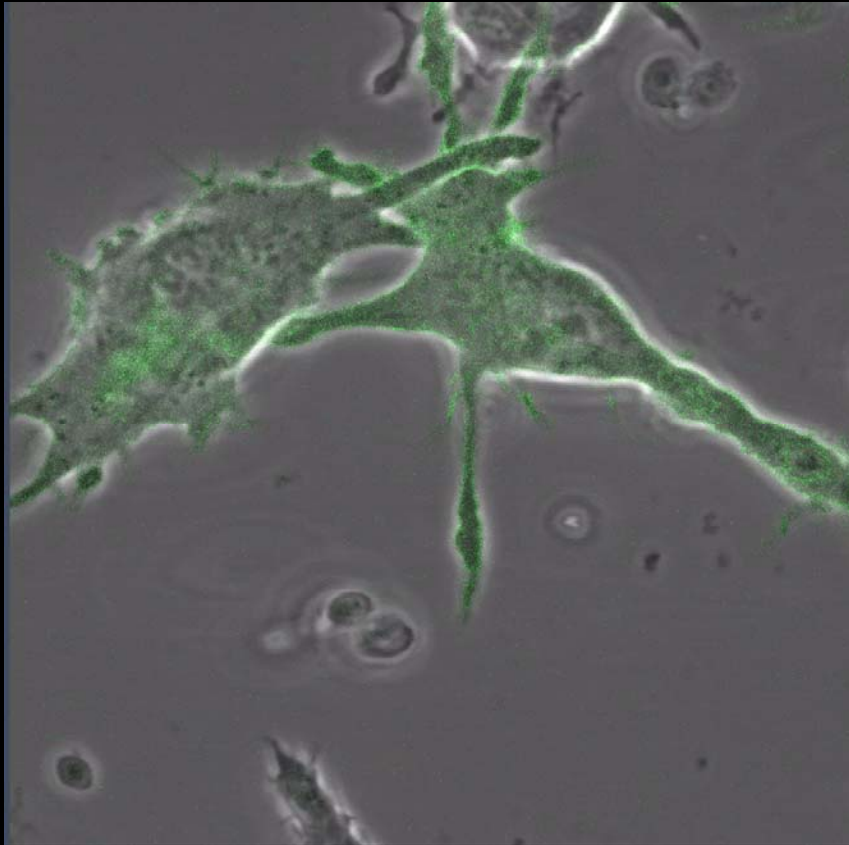
**IgG-opsonized赤血球の
取り込みの時には、GFP-
Rab35が局在してくるんや~**



C3-opsonized(+)-GFP Rab35の局在



C3-opsonized(-)・GFP Rab35の局在



結果と考察(実験3)

- GFP-Rab35の局在変化の様子
ファゴサイトーシスカップ形成時に、少し局在が見られ、成熟につれて、シグナル強度が増大する。
- GFP-Rab35の局在変化の差
C3-opsonized (+/-) ZyAの取り込みの際のGFP-Rab35の局在変化にはっきりした差は見られなかった。



感謝のことば

**荒木先生、三宅先生
江上先生、おやびん
4週間、
お世話になりました!!
ありがとうございました☆**

