synchronized cells and subjected to SDS-PAGE and Western analysis. Cytochemical localization of PP1 γ 1 was studied by an immunohistochemical technique. We found that each isozyme has different expression pattern. Subcellular localization of PP1 γ 1 depended on cell cycle. The present results suggest the expression of PP1 associate with cell cycle in osteoblastic cells.

25. 蛋白質脱リン酸化酵素 1 δ の細胞内局在と AgNORs

○羽地 達次・野見山貴美子・森本 景之・岡村 裕彦・小林 繁

九歯大・口解 1

蛋白質脱リン酸化酵素 1 型 (PP-1 δ) cDNA 塩基配列から類推される 13 個のアミノ酸残基のポリペプチドを合成し、抗ペプチド抗体を得た。in vitro で骨芽細胞の性質を示す MC3T3-E1 細胞を通常により培養し、経時的に細胞を採取して、免疫蛍光抗体法を行い、PP-1 δ の細胞内局在を免疫蛍光抗体法で調べた。また、渡銀染色法により AgNORs の細胞内局在を調べた。さらに培養細胞で細胞分画を行い、核及び核小体より蛋白を調整し、免疫ブロッキング法を行なった。PP-1 δ は核小体にドット状に存在し、渡銀染色により検出される AgNORs の分布と酷似した。PP-1 δ は核小体に存在する分子量 37 kDa の蛋白と強力に反応した。PP-1 δ の核内発現は細胞の分化に伴い消失し、アクチノマイシン D 処理により阻害されるが、AgNORs の発現はいずれの場合にも検出された。以上の結果から、PP-1 δ は増殖期の細胞で核内で発現し、細胞が分化するにつれて、細胞質に移行するものと考えられる。また、PP-1 δ はその細胞内局在は AgNORs の分布と酷似しているが、その実態は異なる。

Subcellular localization of protein phosphatase type 1 δ isotypes and AgNORs in mouse osteoblastic cells

Tatsuji Haneji, Kimiko Nomiyama, Hiroyuki Morimoto, Hirohiko Okamura and Shigeru Kobayashi
(First Department of Oral Anatomy, Kyushu Dental College)

Protein phosphorylation and dephosphorylation has been recognized as a key mechanism in the regulation of cellular metabolism and functions in various tissues. However, the cytochemical localization of PP 1 δ in mammalian cells are still unclear. In the present study, the localization of PP1 δ and AgNORs in mouse osteoblastic MC3T3-E1 cells was determined and its relation to AgNORs was examined. Formaldehyde-fixed and alcohol-permeabilized cultured cells were reacted with the PP1 δ antibodies and silver nitrate. Intense staining occurred in the nucleus with the PP1 δ antibody. PP1 δ was specifically stained as dots in the nucleus that may represent nucleoli, which resembling AgNOR distribution. Cellular fractionation was done with the cultured cells and proteins were prepared from each fraction. Each protein preparation was subjected to SDS-PAGE followed by Western analysis. PP1 δ recognized the 37 kDa proteins present in the nuclear and nucleolar fractions, with the reaction in the latter being much stronger. AgNOR-associated proteins were detected in cultured cells with silver nitrate. Our observations show that δ isozymes of protein phosphatases occupy distinct compartments in MC3T3-E1 cells. This differential distribution suggests that this enzyme may play different roles in cellular functions.

26. ヒト口腔扁平上皮癌細胞における Fas レセプターおよび Fas リガンドの発現

○後藤 佳穂¹・瀬田 千尋¹・福田 仁一¹・中牟田信明²・小林 繁²・羽地 達次²

¹九歯大・口外 1, ²九歯大・口解 1

固形癌における Fas レセプターと Fas リガンドの発現に関して多くの報告があるがその詳細については未だ不明な点が多い。今回我々は、口腔扁平上皮癌細胞 (SCC-25) における Fas レセプターおよび Fas リガンドの発現について検討した。

1. RT-PCR 法, Western Blotting 法により FasR および FasL の遺伝子と蛋白の発現について調べた。2. 免疫染色により FasR および FasL の SCC-25 細胞内局在を調べた。3. WST-1 Assay により Fas 抗体による細胞死を