

Study on Expression of Human Acetyl-CoA
Carboxylase 2 and Malonyl-CoA Decarboxylase
Using Silkworm-based BmNPV Bacmid
Expression System and their Functional Analysis

メタデータ	言語: en 出版者: Shizuoka University 公開日: 2015-06-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Hwang, In-Wook メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.14945/00008739

専攻 バイオサイエンス 学籍番号 5514 4015 学生氏名 黄 寅旭

論文題目 Study on Expression of Human Acetyl-CoA Carboxylase 2 and Malonyl-CoA Decarboxylase Using Silkworm-based BmNPV Bacmid Expression System and their Functional Analysis (カイコ BmNPV バクミド発現系を用いたヒトアセチル-CoAカルボキシラーゼ2およびマロニル-CoAデカルボキシラーゼの発現とその機能解析に関する研究)

先進諸国の社会では肥満人の割合が高く、肥満による各種合併症が危惧されている。肥満は体内脂肪酸代謝と深く関わっており、それは主に Malonyl-CoA の合成に関与する Acetyl-CoA carboxylase (ACC) と Malonyl-CoA の分解反応に関与する Malonyl-CoA decarboxylase (MCD) によって調節されている。これらの酵素は分子量が高く、生体での発現量が微量であるため、生化学的性質が殆ど解明されていない。

本論文では、脂肪酸代謝についての概要の紹介にはじまり、ACC と MCD の脂肪酸代謝調節機構について解説し、第2章ではカイコを用いてヒト ACC の大量発現・精製を行い、ACC のリン酸化、重合化及びビオチン化を確認した。さらに、原子力間顕微鏡を用い、クエン酸を添加して ACC の反応を観察することで ACC の重合化を可視化することで、ACC の重合化反応を明らかにした。第3章ではカイコを用いて MCD の大量発現を行い、精製後活性を測定したところ、大腸菌で発現した酵素よりほぼ2倍高い活性を示した。さらにリン酸化部位を予測して、予測した2箇所に点変異を加え脱リン酸化し、リン酸化と活性との相関関係を調べた。リン酸化予測箇所に変異を導入したところ、活性は半分程度低下したことから MCD のリン酸化は生物機能に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

本論文は、カイコで 260 kDa 程度の巨大タンパク質を発現・精製を行い生物機能を中心に研究を行ったものである。本研究は、カイコ発現系において今まで不明であった翻訳後修飾、例えばタンパク質のリン酸化、ビオチン化及び重合化に関する問題を払拭し、その生物学的機能を明らかにすることでカイコ発現系の有効性を再確認したものである。

また、口頭発表、質疑応答においても的確に回答した。上記を踏まえ、最終審査の結果、博士(工学)の学位を授与するに値するものと認められた。