

大腸菌で発現したマウス AMCase は CHO 細胞で発現した酵素と同等の機能を持つ

石川 晃太郎 大学院化学応用学専攻 / 小山 文隆 工学部 応用化学科 教授

キーワード: キチン, 酸性哺乳類キチナーゼ, タンパク質の機能

概要 酸性哺乳類キチナーゼ (AMCase) は、炎症を伴う疾患でレベルが増加することから注目されている。その生物化学的解析のためには精製酵素を大量に得る必要がある。現在その目的のためには、動物培養細胞、昆虫培養細胞発現系が主に用いられている。AMCase の病態生理学的役割を理解するため、我々はマウス AMCase を融合タンパク質として大腸菌内で発現した(図1)。この大腸菌組換え酵素は、4-nitrophenyl *N,N'*-diacetyl- β -D-chitobioside を基質とした場合、CHO 細胞で発現した AMCase に匹敵する酵素活性を示した(図2)。さらに、大腸菌組み換え AMCase はキチンビースに結合した(図3)。さらに、この組換え体酵素はコロイダルキチンを基質とした場合、CHO細胞で発現した AMCase と同様に、主に、*N,N'*-diacetylchitobiose を生成した(図4)。

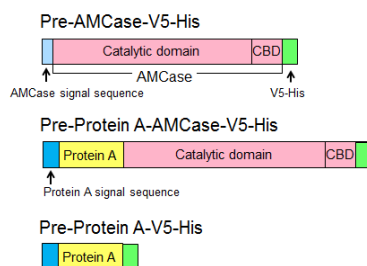


図1. CHO 細胞あるいは大腸菌で発現したマウス AMCase

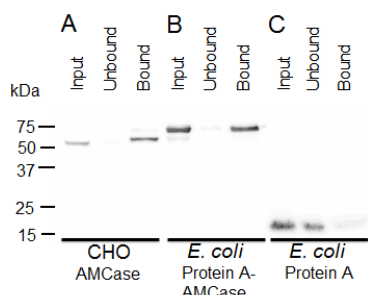


図3. CHO 細胞あるいは大腸菌で発現したマウス AMCase のキチンビース結合活性

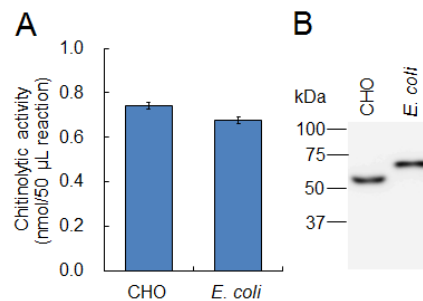


図2. 大腸菌で発現したマウス AMCase は CHO 細胞で発現した酵素と同等の酵素活性を持つ

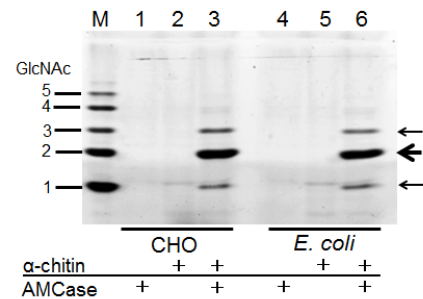


図4. CHO 細胞あるいは大腸菌で発現したマウス AMCase のコロイダルキチンの分解

アピールポイント

大腸菌で発現した組み換え AMCase は、CHO 細胞で発現した酵素に匹敵する機能を有していた。

利用・用途 応用分野

この組み換えタンパク質は、マウス AMCase の詳細な生物医学的機能を解明するために使用することができる。

関連情報

- 関連論文: Kashimura, A., Okawa K., Ishikawa, K., Kida, Y., Iwabuchi, K., Matsushima, Y., Sakaguchi, M., Sugahara Y. and Oyama F. (2013) Protein A-mouse acidic mammalian chitinase-V5-His expressed in periplasmic space of *Escherichia coli* possesses chitinase functions comparable to CHO-expressed protein. *PLoS ONE* 8: e78669
- 関連URL: <http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0078669>