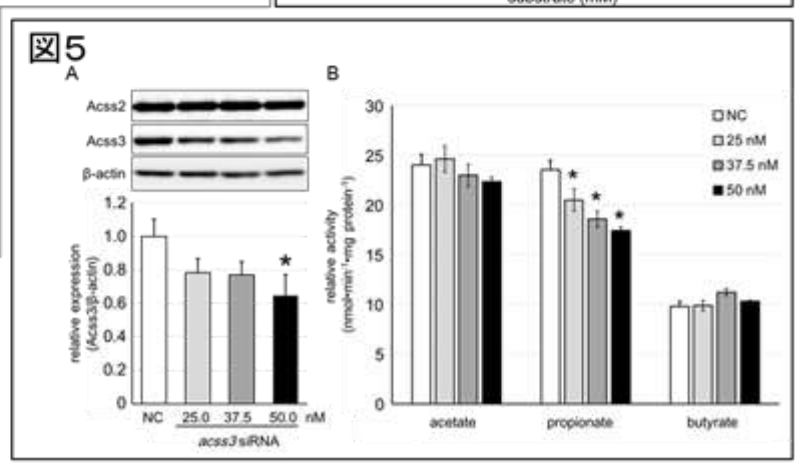
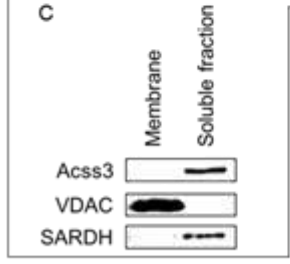
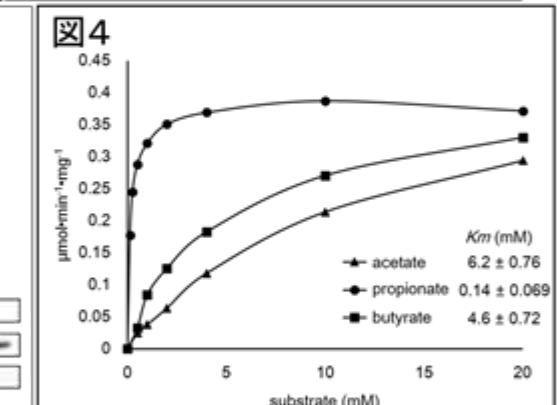
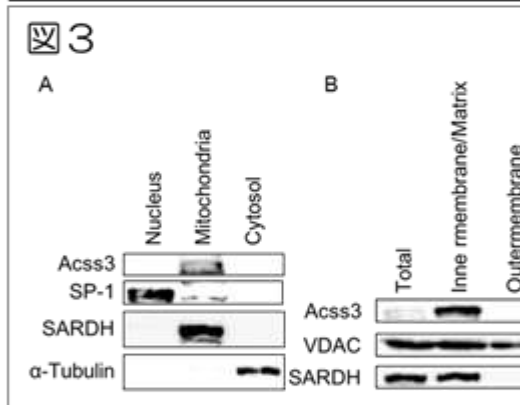
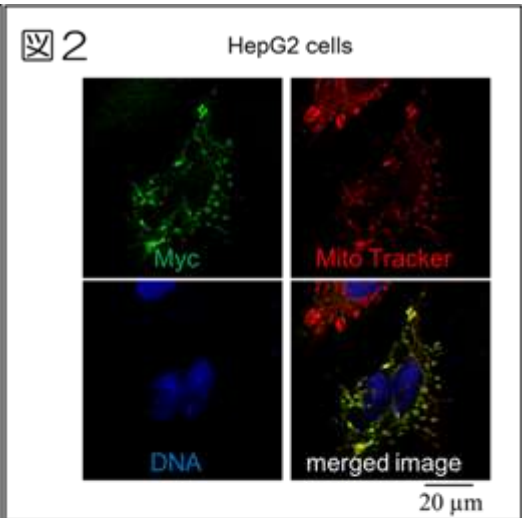
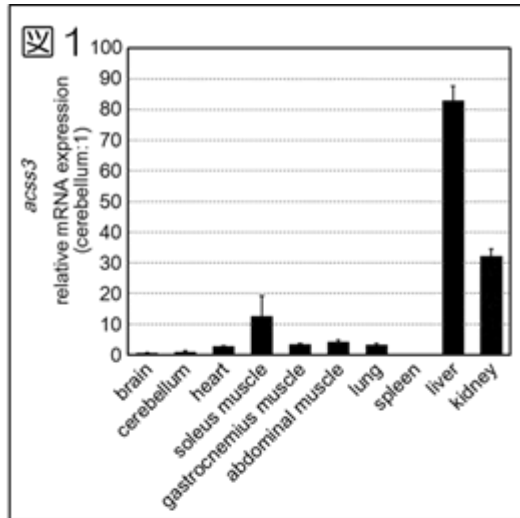


申請者	学科名	栄養学科	職名	助教	氏名	吉村 征浩
調査研究課題	肝臓ミトコンドリアに存在する新規アセチル CoA 合成酵素の同定					
調査研究組織	氏名	所属・職		専門分野	役割分担	
	代表	吉村 征浩	栄養学科・助教	生化学	研究デザイン、実験実施	
	分担者	山下 広美	栄養学科・教授	栄養学	研究デザイン	
調査研究実績の概要	<p>腸内細菌の発酵により産生される短鎖脂肪酸 (SCFA) は宿主に吸収され、エネルギー源として利用されるだけでなく、受容体を介して宿主の生理機能を制御しうることが分かってきた。SCFAは組織に取り込まれた後、Acyl-CoA synthetase short-chain family (ACSS) memberによって活性化され、利用される。報告されている3つのACSSのうち、ACSS3はその詳細が全くわかっていない。本研究ではACSS3の詳細を解明するためにラットのACSS3をクローニングし、細胞内局在、組織分布、基質特異性を調べた。</p> <p>ラット <i>acss3</i> の発現組織を調べたところ、肝臓、腎臓において高発現していた (図 1)。ACSS3のcDNAを <i>myc</i> タグが付加するようにHepG2細胞に発現させ、<i>myc</i> 抗体を用いて細胞免疫染色を行った。その結果、ACSS3はミトコンドリアマーカ (MitoTracker) 同様、ミトコンドリアに局在した (図 2)。また、肝臓の細胞分画を行い、Western BlottingでACSS3の発現画分を調べたところ、ミトコンドリアマトリックスに発現していることがわかった (図3)。以上のことから、ACSS3は肝臓ミトコンドリアマトリックスに局在する酵素であることがわかった。</p> <p>次にラットACSS3を大腸菌に発現させ精製し、基質特異性を調べた。その結果、ACSS3は酢酸が最適な基質である他のACSSホモログとは異なり、プロピオン酸を最適な基質とした酵素であることがわかった (図4)。プロピオン酸を基質としてpropionyl-CoAを合成する酵素 (propionyl-CoA sythetase) は、細菌においては報告があるが、哺乳類など高等生物では現在まで報告がない。実際に肝細胞において、<i>acss3</i>がpropionyl-CoA synthetase活性の責任酵素であることを確かめるために、HepG2細胞を用いて、<i>acss3</i>をノックダウンし、その細胞破碎液のacyl-CoA合成酵素活性を測定した。<i>acss3</i>ノックダウン細胞ではACSS3タンパク質発現量が減少し、ACSS2の発現量には変化が見られず、ACSS3を特異的にノックダウン出来ていることがわかった (図 5A)。</p>					

細胞破碎液のacyl-CoA活性は酢酸、酪酸を基質とした場合は変化がなかったが、プロピオン酸を基質とした場合のみ活性低下がみられた（図5B）。以上のことから、ACSS3は肝臓ミトコンドリアマトリックスに存在するpropionyl-CoA合成酵素であることが分かった。



調査研究実績  
の概要