



Successful synthesis of active human coagulation factor VII by co-expression of mammalian gamma-glutamyl carboxylase and modification of vit.K cycle in Drosophila Schneider S2 cells

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2017-04-13 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 長橋, ことみ メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/3150

論文審査の結果の要旨

ビタミン K (vit. K) 依存性血液凝固因子である凝固第 VII 因子(FVII)は、グルタミン酸が vit. K 依存性 γ -グルタミルカルボキシラーゼ (GGCX) の触媒作用で修飾された γ カルボキシグルタミン酸(Gla)を多く有する Gla ドメインを N 末端領域に持つ。組換え活性化ヒト FVII (rhFVIIa) は止血目的で種々病態時の異常出血に広く使用されるが哺乳動物細胞株を用いた合成は収率が低く、効率的な大規模培養系の確立が期待される。Gla 合成反応に必要な還元型 vit. K は、vit. K 2,3-エポキシドレダクターゼ (VKOR) (遺伝子は vit. K エポキシドレダクターゼ複合体サブユニット 1: *VKORC1*) により vit. K サイクルで産生される。申請者らは組み換えタンパク質を高度に発現しうるショウジョウバエ由来の *Drosophila melanogaster* Schneider 2 細胞株 (S2) を用い、Gla 化された rhFVIIa の発現系の確立を試みた。*hFVII* と S2 細胞あるいは哺乳動物の分泌シグナル、哺乳動物の *GGCX*、*VKORC1* 及びタンパク質ジスフィリドイソメラーゼファミリー A メンバー 2 (*PDIA2*) の組み合わせで 5 種類のベクターを作成後 S2 細胞に導入し、vit. K 存在下及び非存在下で CuSO_4 により rhFVIIa の発現を誘導して活性型 rhFVIIa の発現分泌効率を解析した。その結果 S2 細胞の分泌シグナルのみで rhFVII は発現分泌するものの、Gla 化には vit. K と哺乳動物の *GGCX* が必須であること、また哺乳動物の *VKORC1*、*PDIA2* により更に効率が上がることが確認され、哺乳動物 *VKORC1* と *PDIA2* により、vit. K サイクルが促進されることが示唆された。

審査委員会では、詳細な解析結果を基盤に S2 細胞に哺乳動物 *GGCX*、*VKORC1* と *PDIA2* を共発現させることにより、Gla 化された rhFVIIa の安定で大量生産可能な新規の産生方法を確立した点を高く評価した。

以上により、本論文は博士(医学)の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者

主査 浦野 哲盟

副査 才津 浩智

副査 蓑島 伸生