

Title	Molecular Diversity of Amidating Enzymes in <i>Xenopus laevis</i>
Author(s)	岩崎, 靖乃
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38513
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	岩 崎 靖 乃
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 9 4 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 5 年 10 月 4 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	Molecular Diversity of Amidating Enzymes in <i>Xenopus laevis</i> (アフリカツメガエルにおけるペプチド C 末端アミド化酵素の分子多様性)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 浅 野 朗 (副査) 教 授 崎 山 文 夫 教 授 長 谷 俊 治

論 文 内 容 の 要 旨

生理活性を有するペプチドの多くは C 末端がアミド化されており、活性発現にアミド構造が必須とされている。最近までペプチド C 末端のアミド化反応は単一の酵素が触媒すると考えられていたが、私達は 2 つの酵素による 2 段階反応であることを明らかにし、各酵素を peptidylglycine α -hydroxylating monooxygenase (モノオキシゲナーゼ), peptidylhydroxyglycine N-C lyase (リアーゼ) と命名した。

今回まず、アフリカツメガエル皮膚よりリアーゼを単一に精製しアミノ酸配列を解析後、得られた情報に基づき cDNA (AE-III と命名) を単離し構造を解析した。その結果、2 段階反応を触媒するモノオキシゲナーゼとリアーゼが 1 本の mRNA 上に 1 つの前駆体蛋白質として順にコードされていることが明らかになった。この約 100kDa の前駆体蛋白質が限定切断されてモノオキシゲナーゼ (39kDa) とリアーゼ (37kDa) が生成されると考えられる。AE-III cDNA は既に同皮膚より単離されていた AE-I, AE-II cDNA と高い相同性を示した。AE-I cDNA はモノオキシゲナーゼのみをコードしている。一方、AE-II cDNA から予想される蛋白質は AE-III に類似しているが、これまでの両酵素の精製過程では検出されなかった。サザンブロット解析の結果、AE-I-mRNA と AE-III-mRNA が 1 つの遺伝子に由来するスプライシング産物であること、更に AE-II-mRNA をコードとする遺伝子が別に存在することが示唆された。

AE-II cDNA を昆虫細胞系で発現させた結果、AE-III 前駆体蛋白質が C 末端近くの疎水性領域によって膜に結合していること、更に両酵素ドメインが切り離されずに bifunctional な酵素としても機能することが明らかになった。そこでこの様な分子多様性がアフリカツメガエル生体内においても存在するかについて検討を試みた。まず皮膚において両酵素活性のほとんどが可溶性画分に存在したのに対し、脳や心臓では膜画分に両酵素活性の多くが存在した。更に抗モノオキシゲナーゼ抗体によって脳、心臓の膜画分に約 100kDa の蛋白質が検出されたことから、脳や心臓では前駆体蛋白質のドメイン間が限定切断されずに bifunctional な膜結合蛋白質のまま存在すると考えられた。また、各組織における AE-I-, AE-II-, AE-III-mRNA レベルを解析した結果、AE-I-, AE-III-mRNA の比率、即ち、RNA スプライシングも酵素の分子形に影響を与えることが示唆された。以上のことから、アフリカツメガエル組織間にモノオキシゲナーゼとリアーゼの分子形の多様性が存在し、それは RNA スプライシングと前駆体蛋白質の限

定切断の両方のレベルで組織特異的な調節を受け、作り出されるとが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

本論文はペプチドC末端アミド化が、C末端グリシンの水酸化を行うモノオキシゲナーゼと、水酸化グリシンのN-C結合を切断したアミドをつくるリアーゼの二つの酵素による二段階の反応であることを、リアーゼの精製、クローニングなどにより初めて明らかにしたものであります。さらにこのクローンの構造と、細胞内分布の測定から、この二つの酵素は一つの連続した、しかも膜貫通型タンパク質として合成され、その後、これが切断され働く場合と、膜結合のまま作用する場合があることを明らかにしております。この結果は、多くの生理活性ペプチドの生成に重要な知見であり、博士論文として価値あるものと認めます。