

Title	Semicarbazide-Sensitive Amine Oxidase from Bovine Aorta : Analysis of Covalently Bound Quinone Cofactor and cDNA Cloning
Author(s)	岩路, 秀彦
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41544
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 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 露 秀 彦
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 14404 号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Semicarbazide-Sensitive Amine Oxidase from Bovine Aorta: Analysis of Covalently Bound Quinone Cofactor and cDNA Cloning (ウシ大動脈由来セミカルバジド感受性アミン酸化酵素: 共有結合型キノン補酵素の解析と遺伝子の同定)
論文審査委員	(主査) 教授 谷澤 克行 (副査) 教授 長谷 俊治 教授 倉光 成紀

論文内容の要旨

セミカルバジド感受性アミン酸化酵素 (SSAO) は大動脈や胎盤等, 高等動物の組織に存在し, その酵素名はセミカルバジドによる阻害に基づき慣例的に用いられてきた。SSAO は銅含有アミン酸化酵素 (EC 1.4.3.6) に属し, 各種一級アミン類の酸化的脱アミノ反応 ($\text{RCH}_2\text{NH}_2 + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{RCHO} + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$) を触媒する。また, SSAO は生体アミンの代謝や外来モノアミンの分解に関する推定されているが, 実際の生理的役割については未解明である。銅含有アミン酸化酵素は, 一般的に分子サイズ75~100-kDa のホモダイマー構造を持つことが知られている。また, 同酵素は, 古くからカルボニル基を有する有機化合物を補酵素として含有することが示されてきたが, 1990年にウシ血清由来の銅含有アミン酸化酵素 (BSAO) でトパキノン (2,4,5-trihydroxyphenylalanyl quinone; TPQ と略称) と同定されるまで, その構造は不明であった。以来, 多くの銅アミン酸化酵素で TPQ が補酵素として決定されたが, SSAO に関しては, セミカルバジド等のカルボニル試薬による阻害などから TPQ と同様な補酵素の存在が推定されているものの, 酵素精製の困難さなどにも起因して, 最終的な結論は得られていない。

本研究では, SSAO の共有結合型補酵素を同定することを目的として, ウシ大動脈から SSAO の精製を試みた。界面活性剤 (Triton X-100) で組織から酵素を抽出後, 5段階のクロマトグラフィー操作を経て SSAO を高度に精製した。SDS-PAGEを用いる分析では, SSAO はキノン化合物を持つ分子サイズ94-kDa の糖タンパク質で, ホモダイマー構造を形成することが示された。また, p-ニトロフェニルヒドラジンで処理した SSAO の吸収スペクトルおよびアルカリ条件下での吸収極大の変化から, SSAO が TPQ もしくは TPQ に極めて類似したキノン補酵素を含有することが明らかになった。

更に, ウシ大動脈由来 SSAO の cDNA クローニングを行ない, その構造遺伝子は2289塩基対で構成され763個のアミノ酸残基をコードすることを明らかにした。その推定アミノ酸配列中には TPQ 生成のためのコンセンサス配列 Asn-Tyr-Asp-Tyr と銅リガンドとして機能している3つの His 残基の存在が確認され, このことから SSAO のキノン補酵素は TPQ であることが推定された。また, SSAO の名称とともに混乱している銅含有アミン酸化酵素の命名法の確立・分類を行うために, SSAO を含む各種の銅含有アミン酸化酵素のアミノ酸配列に基づいての進化系統樹を作成した。その結果, 高等動物の銅含有アミン酸化酵素は少なくとも3つのグループ: ①ジアミン酸化酵素 (アミロライド結合タンパク質を含む), ②網膜細胞において特異的機能を持つモノアミン酸化酵素, ③その他大多数のモノアミン酸化酵素, に分類することができた。そして③の酵素は, 血管粘着タンパク質に高い相同性 (>80%) を持

つことから、共通の機能を持つと推察した。

論文審査の結果の要旨

高等動物の血管や胎盤などの組織には、セミカルバジド感受性アミノ酸化酵素と呼ばれる膜結合型の酵素が存在するが、その分子構造や生理的役割は未解明に残されている。岩薮秀彦君は、ウシ大動脈から本酵素を精製してその共有結合型補酵素について解析するとともに、cDNAの塩基配列を決定して本酵素が銅含有アミノ酸化酵素に属し、その補酵素はTPQであることを明らかにした。さらに、各種生物の銅含有アミノ酸化酵素の進化系統樹を作成し、高等動物の酵素はいくつかのサブタイプに分類できることを示した。これらの研究成果は、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。