慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Characterization of AOC2 gene encoding a copper-binding amine oxidase expressed specifically in retina.
Sub Title	網膜特異的銅依存性アミン酸化酵素AOC2の遺伝子の解析
Author	張, 強
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.2 (2004. 6) ,p.24-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040602-0024

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Characterization of *AOC2* gene encoding a copper-binding amine oxidase expressed specifically in retina.

（網膜特異的銅依存性アミン酸化酵素*AOC2*の遺伝子の解析）

張　　強

内容の要旨

【目的】我々は網膜特異的銅依存性アミン酸化酵素（AOC2）のクローニングに成功した。これは銅依存性アミン酸化酵素のファミリーに属する遺伝子で、血管内皮細胞に発現する接着因子（VAP-1、AOC3）と65%の相同性を持つ。マウス、ラットのAOC2を単離し、さらにその遺伝子構造、周辺遺伝子構造を解析した。遺伝子の複製などを含めてAOC2の機能について考察した。

【対象と方法】ヒトAOC2cDNAをプローブとして、マウスのゲノムDNAファージライブラリをスクリーニングした。設計したプライマーでAOC2を増幅し、AOC2の遺伝子構造を決定した。ラットAOC2エクソン１のクローニングをした。更にAOC2およびAOC3のタンパク質２次構造の解析をした。マウス、ヒトAOC2遺伝子とその周辺遺伝子の塩基配列を決定し、構造を明らかにした。AOC2 mRNAの定量分析を行った。In situ hybridizationおよび免疫染色法によるAOC2の網膜発現部位の解析をした。

【結果】マウスAOC2のcDNAは2,553塩基対よりなり、757アミノ酸のタンパク質をコードしていた。ヒトAOC1、ヒトAOC2、マウスAOC3、ヒトAOC3とそれぞれ37%、80%、61%、60%の相同性があった。活性部位や銅付着部位は保存されていた。アミノ酸配列５から17に膜貫通ドメインが存在する可能性が予測された。グリコシル化部位は７つのセリン／トレオニン残基と３つのアスパラギン残基に存在すると予測された。ラットにおいてAOC2は擬遺伝子化している可能性がある。定量的PCRの結果、網膜で特に多く発現していることがわかった。In situ hybridizationと免疫染色法によって網膜神経節細胞に特異的な発現が観察された。AOC2とその周辺遺伝子の解析によって、AOC2は２つの遺伝子、psem3とAOC3に挟まれていることが分かった。AOC2周辺にDNA転位の痕跡が見つかった。

【結論】AOC2の網膜における特異的な発現が確認された。銅付着部位、酵素活性部位およびグリコシル化部位がAOC3と一致しているから、AOC2はAOC3と似た性質をもっていると予測し、そして二つの遺伝子が縦列に存在することからAOC2はAOC3から網膜特異的な新しい接着因子として進化したと予測される。ラットの偽遺伝子化になっているAOC2の代わりにAOC3あるいは他のアミン酸化酵素が機能している可能性がある。遺伝子の構造、偽遺伝子の存在、トランスポゾンの存在からこの領域において複雑な遺伝子複製や転移が起こったことが示唆される。

論文審査の要旨

網膜に特異的かつ豊富に発現する遺伝子の捜索は視機能解明および網膜の遺伝的疾患の病態解明に重要である。我々がクローニングに成功し網膜特異的銅依存性アミン酸化酵素（AOC2）は、銅依存性アミン酸化酵素のファミリーに属する遺伝子で、血管内皮細胞に発現する接着因子（VAP-1、AOC3）と65%の相同性を持つ。更にマウス、ラットのAOC2を単離し、その遺伝子構造、周辺遺伝子構造を解析した。AOC2は網膜で特に多く発現していることが判明した。活性部位や銅付着部位は保存されており、アミン酸配列５から17に膜貫通ドメインが存在する可能性が予測された。ラットにおいてAOC2は擬遺伝子化している可能性があり、AOC2は２つの遺伝子、psem3とAOC3に挟まれていることが分かった。AOC2周辺にDNA転位の痕跡が発見され、AOC2とAOC3の遺伝子が縦列に存在することからAOC2はAOC3から網膜特異的な新しい接着因子として進化したものと予測される。ラットの偽遺伝子化になっているAOC2の代わりにAOC3あるいは他のアミン酸化酵素が機能している可能性がある。遺伝子の構造、偽遺伝子の存在、トランスポゾンの存在からこの領域において複雑な遺伝子複製や転移が起こったことが示唆された。審査ではまず、AOC3遺伝子の局在とAOC2遺伝子の機能について質問がなされた。これに対して、AOC3が炎症時に内皮の表面に移動する。AOC2がAOC3との高い相同性およびゲノムDNA上縦列に存在することからAOC3と同じ接着機能と酵素活性を持っていると推測されるとの回答がなされた。また、炎症時に細胞の表面に移動することによって、細胞中のアミンの調節に影響がないのかという質問がなされた。これについては、影響があるかもしれないが、炎症時発現量が多くなる可能性があることと、AOC2とAOC3はそもそも接着機能がメインで、他の酵素が細胞中のアミン調節機能を持っている可能性があると回答された。膜貫通部位について蛋白質のN末端以外に存在する可能性もあり、推測されるN末端の膜貫通部位がシグナルペプチドの可能性もあると指摘された。これに対して、その可能性が十分あり、AOC3の結果に基づいて酵素活性と接着機能が連動しているので、N末端が細胞の中に存在するか、膜を貫通して残りの部分が細胞膜の表面にあると考えられるとの回答があった。また、膜貫通部位と考えられる部分を除去した後、この遺伝子が細胞の表面に出現するかを確認すればはっきりすると回答がなされた。その他免疫染色で、蛋白分解酵素を使用した理由につき討論があった。

本研究ではAOC2がAOC3に比較し、網膜の神経節細胞層に分布しさらにAOC3の機能を有していることが推測され、膜貫通に関しては議論の余地があったものの、眼科学上貴重な論文と評価された。

論文審査担当者　主査　眼科学　小口　芳久
　　病理学　岡田　保典　　解剖学　仲嶋　一範
　　生理学　岡野　栄之

学力確認担当者：
　審査委員長：岡田　保典

試問日：平成16年２月18日