

## Journal of Biochemistry

Vol. 157, No. 4 (2015 年 4 月 発行)

### 和文ダイジェスト

ここに掲載したダイジェストは、*J.B.* 誌に掲載した英文サマリーの和訳ではありません。掲載論文の要点や強調したい点を著者自身が簡潔にまとめたものです。なお、和文ダイジェストの掲載を希望しない著者の論文や期限内に原稿を提出いただけなかった著者の論文は、題名・著者名・所属・Key words を英文で紹介しています。

#### JB Reviews

##### 脳以外の組織における MAGI2/S-SCAM の機能

長島俊太<sup>1</sup>；小高愛未<sup>1</sup>；岩佐宏晃<sup>1</sup>；畑 裕<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科病態代謝解析学分野；<sup>2</sup>東京医科歯科大学脳統合機能研究センター)

膜裏打ち蛋白 MAGI は、受容体・接着分子とシグナル伝達分子・細胞骨格をつなぐ足場蛋白として機能し、3つのアイソフォームがある。そのうち MAGI2/S-SCAM は脳に高発現し、神経シナプスの裏打ち蛋白として注目され研究が進められてきた。しかし、脳以外の組織にも発現し、癌抑制遺伝子として働き、腸管や腎臓の機能にも重要な役割を果たす。本総説では、脳以外の組織における MAGI2/S-SCAM に関する論文をレビューし、解決すべき問題を議論する。

##### 細胞小器官の量的調節機構—小胞体ストレス応答とゴルジ体ストレス応答，ミトコンドリアストレス応答，リソソームストレス応答

佐々木-大杉佳奈江；吉田秀郎（兵庫県立大学大学院生命理学研究科）

細胞の中には様々な細胞小器官が存在し、細胞の機能を分担しているが、その存在量は細胞の需要に応じて厳密に制御されている。細胞小器官の量的調節機構の問題は細胞生物学の根幹に関わる重要な研究課題であるが、核の量的調節機構（細胞周期）の研究以外はほとんど顧みられることがなかった。本稿では、研究が爆発的に拡大・発展しつつある小胞体やゴルジ体、ミトコンドリア、リソソームの量的調節機構について概説する。

#### Biochemistry General

##### プロトカドヘリン-9 はアフリカツメガエルの網膜形成に関与する

泉田祐輔<sup>1</sup>；平 哲郎<sup>1</sup>；朝山綾子<sup>1</sup>；町頭美香<sup>1</sup>；木下 勉<sup>2</sup>；藤原美和子<sup>1</sup>；鈴木信太郎<sup>1</sup> (<sup>1</sup>関西学院大学理工学部生命科学科；<sup>2</sup>立教大学理学部生命理学科)

プロトカドヘリンの生理機能はいまだに十分解明されてい

ない。そこで、我々はアフリカツメガエルを用いてプロトカドヘリン-9 の生理機能を検討した。アフリカツメガエルとヒトのプロトカドヘリン-9 のアミノ酸配列を cDNA を得て比較したところ、配列は非常に良く保存されていることが明らかとなり、プロトカドヘリン-9 は重要な機能を果たしていることが示唆された。次に、アフリカツメガエルのプロトカドヘリン-9 を L 細胞に発現させたところ、ほ乳類のプロトカドヘリンと同様の性質を示した。また、胚発生におけるプロトカドヘリン-9 の発現変化を検討したところ、プロトカドヘリン-9 はステージ 31 くらいから発現が始まり、発生が進むにつれて発現が強くなった。プロトカドヘリン-9 は成体の神経系に広く発現していたが、特に網膜の網状層に強く発現していた。そこで、プロトカドヘリン-9 に対するモルフォリノオリゴヌクレオチドを受精卵に注入したところ、眼の形成に異常をきたし、眼の発育不全や網膜の層構造の形成異常がみられた。この異常はプロトカドヘリン-9 mRNA の共注入により、阻害された。これらの結果はプロトカドヘリン-9 が眼の発生において重要な役割を果たしていることを示唆している。

#### Protein Structure

##### イソプルーラーゼの安定性における糖鎖付加したアスパラギン残基側鎖の重要性

宮崎剛重；矢代浩之；西河 淳；殿塚隆史（東京農工大学大学院農学府応用生命化学専攻）

糖タンパク質であるイソプルーラーゼにおける N-結合型糖鎖の役割を解明するため、活性部位近傍に存在する糖鎖付加部位である Asn448 に着目し、複数の変異体を構築した。変異体の温度安定性測定および X 線結晶構造解析の結果、活性部位の構造の安定性には Asn448 の側鎖が重要であることを示した。本結果は Asn 変異体のみを用いた評価では、糖鎖と安定性の相関についての議論には不十分であることを示した。

#### Biomolecular Structures

##### Quantitative analysis of the interaction between L-methionine derivative and oligonucleotides

Élia Mota; Fani Sousa; João A. Queiroz; Carla Cruz (CICS-UBI—Centro de Investigação em Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Av. Infante D. Henrique, 6200-506 Covilhã, Portugal)

Keywords: binding interactions, L-methionine, oligonucleotides, surface plasmon resonance

#### Glycobiology and Carbohydrate Biochemistry

##### 菌類レクチンの一アミノ酸置換によって創出された 3' 硫酸化 Galβ1-4GlcNAc 特異的プローブ

Dan Hu<sup>1</sup>；Hang Huang<sup>1</sup>；館野浩章<sup>2</sup>；中北慎一<sup>3</sup>；佐藤 隆<sup>4</sup>；成松 久<sup>4</sup>；Xinsheng Yao<sup>1</sup>；平林 淳<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products, College of Phar-

macy, Jinan University, Guangzhou 510632, People's Republic of China; <sup>2</sup>独) 産業技術総合研究所幹細胞工学研究センター; <sup>3</sup>香川大学総合生命科学センター糖鎖機能解析研究部門; <sup>4</sup>独) 産業技術総合研究所糖鎖医工学研究センター) 我々は、ヤナギマツタケ (*Agrocybe cylindracea*) ガレクチンの一か所のアミノ酸置換 (Glu86→Ala) によって本レクチンが3'硫酸化Galβ1-4GlcNAcに対する特異的プローブへと転じることを見出した。この機能獲得は既存の性質の一部が失われることによって起こったことが示された。本変異体 (E86A) の糖に対する親和性は総じて弱い。3'硫酸構造を有する天然由来N-型糖鎖に対し結合を示し、ガラクトース-3-O-硫酸転移酵素を過剰発現したHeLa細胞にも特異的に結合した。

### Enzymology

#### *Scomber japonicus*由来L-リジンα-オキシダーゼの*Pichia pastoris*における異種発現と組換え酵素の機能解析

谷 泰史<sup>1,2</sup>; 大松晃一郎<sup>1</sup>; 斎藤茂樹<sup>1,2</sup>; 三宅良磨<sup>3,4</sup>; 川端 潤<sup>3,4</sup>; 上田 誠<sup>3</sup>; 三原久明<sup>1</sup> (<sup>1</sup>立命館大学生命科学部; <sup>2</sup>立命館大学グローバル・イノベーション研究機構; <sup>3</sup>三菱化学科学技術研究センターバイオ技術研究所; <sup>4</sup>エービーアイコーポレーション)

L-リジンα-オキシダーゼは、外皮局在性の新規抗菌タンパク質として複数の魚類に見出されている。本酵素はL-リジンに対して高い基質特異性を示すが、その機構は不明である。本研究では、真サバ由来のL-リジンα-オキシダーゼを*P. pastoris*宿主で発現させ、均一に精製し、その諸性質を解明した。ホモロジーモデリング解析より、Asp<sup>220</sup>とAsp<sup>320</sup>が基質認識部位であることが示唆された。

### Biochemical Pharmacology

#### ブレオマイシン鉄 (Bleo-Fe<sup>3+</sup>) のペルオキシダーゼ活性と生体成分の障害との関連性

三浦俊明 (北海道薬科大学自然科学分野)

一般的なペルオキシダーゼと比較すると極めて低い活性ではあるが、Bleo-Fe<sup>3+</sup>は、パーオキシド (LOOH) の存在下で種々の基質を酸化することができる。Bleo-Fe<sup>3+</sup>はヘムと類似の構造をしており、LOOHと反応してcompound I様ラジカル種となってDNA鎖切断に関与している。これとは別にBleo-Fe<sup>3+</sup>は脂質過酸化を惹起し、ペルオキシダーゼの基質となるLOOHを生成する。効率は低い。Bleo-Fe<sup>3+</sup>はP450様のモノオキシゲナーゼ活性を持つ。

### Gene and Protein Engineering

#### ヒトα-シヌクレインの毒性を緩和する酵母ユビキチンリガーゼRsp5変異体の単離と機能解析

Indah Wijayanti; 渡辺大輔; 大城 聡; 高木博史 (奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科)

酵母の生存に必須な唯一のHECT型ユビキチンリガーゼRsp5は、ストレスで生成する異常タンパク質の選択的な

認識・分解に関与すると考えられている。我々はパーキンソン病などの神経変性疾患の原因であるヒトα-シヌクレインをモデル基質として、Rsp5の基質認識に関与するWWドメインにランダム変異を導入し、α-シヌクレインの認識、ユビキチン化、分解を特異的に促進させる高機能型Rsp5変異体の取得に成功した。

### Glycotechnology

#### In situ visualization of a glycoform of transferrin: localization of α2,6-sialylated transferrin in the liver

Yuka Matsumoto<sup>1</sup>; Toshie Saito<sup>2</sup>; Kyoka Hoshi<sup>2</sup>; Hiromi Ito<sup>2</sup>; Yoshinobu Kariya<sup>2</sup>; Masamichi Nagae<sup>3</sup>; Yoshiki Yamaguchi<sup>3</sup>; Yoshiaki Hagiwara<sup>4</sup>; Noriaki Kinoshita<sup>5</sup>; Ikuo Wada<sup>6</sup>; Kiyoshi Saito<sup>1</sup>; Takashi Honda<sup>7,8</sup>; Yasuhiro Hashimoto<sup>2,8</sup> (<sup>1</sup>Department of Neurosurgery, <sup>2</sup>Department of Biochemistry, Fukushima Medical University, 1 Hikarigaoka, Fukushima, Fukushima 960-1295, Japan; <sup>3</sup>Structural Glycobiology Team, Systems Glycobiology Research Group, RIKEN-Max Planck Joint Research Center for Systems Chemical Biology, Global Research Cluster, RIKEN, 2-1 Hirosawa, Wako-Shi, Saitama 351-0198, Japan; <sup>4</sup>Department of Biological Sciences, Immuno-Biological Laboratories, Co., Ltd., 1091-1 Naka, Fujioka, Gunma 375-0005, Japan; <sup>5</sup>GeneticLab Co., Ltd., 15-28-196 Kita 9-Jyu, Nishi, Tyuouku, Sapporo-City, Hokkaido 060-009, Japan; <sup>6</sup>Department of Cell Science, <sup>7</sup>Department of Human Life Science, <sup>8</sup>Fukushima Industry-University-Government Research Center, Fukushima Medical University, 1 Hikarigaoka, Fukushima, Fukushima 960-1295, Japan)

Keywords: α2,6-sialic acid, immunohistochemistry, *Sambucus sieboldiana* agglutinin (SSA) lectin, transferrin

### Journal of Biochemistry

Vol. 157, No. 5 (2015年5月発行)

### 和文ダイジェスト

#### JB Reviews

#### 肝細胞増殖因子 (HGF) —Met受容体と創薬

酒井克也<sup>1</sup>; 青木俊介<sup>2</sup>; 松本邦夫<sup>1</sup> (<sup>1</sup>金沢大学がん進展制御研究所腫瘍動態制御研究分野; <sup>2</sup>九州工業大学情報工学部生命情報工学科)

HGF—Met受容体系は、形態形成、再生、生存を促す。遺伝子欠損マウス、疾患モデル動物での研究からHGFは再生治療薬として期待され、筋萎縮性側索硬化症ならびに脊髄損傷などを対象に組換えHGFの臨床試験が進行中である。一方、分子標的抗がん剤としてのHGF-Met系阻害剤の臨床試験が進められるとともに、最近、人工HGFが創製された。HGFの基礎研究は再生医療やがん治療にお

ける創薬につながっている。

### Ral GTPases: crucial mediators of exocytosis and tumorigenesis

Ryutaro Shirakawa; Hisanori Horiuchi (Department of Molecular and Cellular Biology, Institute of Development, Aging, and Cancer, Tohoku University, Seiryō-machi 4-1, Aoba-ku, Sendai 980-8575, Japan)

Keywords: exocyst, exocytosis, Ral, Ras, tumorigenesis

#### Biochemistry General

### HB-EGF に対して強い阻害活性を示すジフテリア毒素 R ドメイン変異体の同定

鈴木圭祐<sup>1</sup>; 水島寛人<sup>1</sup>; 安倍裕順<sup>2</sup>; 岩本 亮<sup>1</sup>; 中村春木<sup>3</sup>; 目加田英輔<sup>1</sup> (<sup>1</sup>大阪大学微生物病研究所細胞機能分野; <sup>2</sup>大阪大学微生物病研究所分子細菌分野; <sup>3</sup>大阪大学蛋白質研究所蛋白質情報科学研究室)

ジフテリア毒素の無毒性変異体 CRM197 は、その R ドメインを介して HB-EGF に結合し HB-EGF の細胞増殖活性を阻害する。R ドメインに変異を持つ MBP 融合タンパクを多数作製し、HB-EGF 阻害活性が強くなる変異体を探索した。上記で見いだした変異を持つ CRM197 を作製し、CRM197 より高い阻害活性を示す CRM197 (R460H) を得た。本研究結果は、HB-EGF を標的とする抗癌剤の開発に有用である。

### ネコザメ皮膚由来 C 型レクチンは極めて幅広い糖特異性を示し、ネコザメの血液凝固を促進する

筒井繁行<sup>1</sup>; 土津田雄馬<sup>1</sup>; 小野綾香<sup>1</sup>; 鈴木昌成<sup>1</sup>; 館野浩章<sup>2</sup>; 平林 淳<sup>2</sup>; 中村 修<sup>1</sup> (<sup>1</sup>北里大学海洋生命科学部; <sup>2</sup>産業技術総合研究所幹細胞工学研究センター)

ネコザメ皮膚より精製したレクチンは、Ca イオン存在下で 9 種の単糖および 4 種の二糖に結合した。本レクチンは EPN モチーフを持つ C 型レクチンであり、系統解析で蛇毒の C 型レクチンと同一のクラスターを形成した。本レクチンは表皮の大型細胞にのみ局在しており、且つネコザメの血液を凝固した。これらの結果から、本レクチンは、ネコザメが傷を負い皮膚から出血した際、止血を促す役割を演じているものと考えられた。

### Probe optimization for sequencing by ligation

Dan Pu; Jing Chen; Xiaoting Qian; Pengfeng Xiao (State Key Laboratory of Bioelectronics, School of Biological Science and Medical Engineering, Southeast University, Nanjing 210096, China)

Keywords: deoxyinosine, double-labelled fluorescent probe, high-throughput sequencing, optimization, probe optimization, sequencing by ligation (SBL)

#### Protein Interaction and Recognition

### GPR84 のリガンド結合様式解析のための変異体解析と分子モデルの作製

二階堂良亮<sup>1</sup>; 小山雄大<sup>1</sup>; 吉川 寧<sup>2</sup>; 古谷利夫<sup>2</sup>; 武田茂樹<sup>1</sup> (<sup>1</sup>群馬大学理工学府; <sup>2</sup>ファルマデザイン)

GPR84 はカプリン酸やジインドリルメタンをリガンドとする中鎖脂肪酸に対する G タンパク質共役受容体である。GPR84 がどのようにリガンドと結合するかを理解するために、活性型の  $\beta 2$  受容体の結晶解析結果をもとに GPR84 の分子モデルを作製した。また、GPR84 のアミノ酸置換体を作製して解析した。その結果、カプリン酸はカルボン酸を受容体の内部にむけた配置で結合していること、ジインドリルメタンは GPR84 の positive allosteric modulator であることがわかった。

#### Reactive Oxygen and Nitrogen Species

### *Azotobacter vinelandii* が内包する VFe-ニトロゲナーゼ転写調節因子, VnfA に対する一酸化窒素の影響

三浦由紀夫<sup>1</sup>; 吉満匡平<sup>1</sup>; 高谷信之<sup>2</sup>; 渡辺芳人<sup>3</sup>; 中島洋<sup>1</sup> (<sup>1</sup>名古屋大学大学院理学研究科物質理学専攻; <sup>2</sup>名古屋大学大学院生命農学研究科生物機構・機能科学専攻; <sup>3</sup>名古屋大学物質科学国際研究センター)

VnfA とは、VFe-ニトロゲナーゼの転写調節因子である。本研究では、VnfA の補欠分子族である 3Fe-4S 型クラスターが一酸化窒素存在下で鉄ニトロシル錯体へ変化するものの、部分的な転写活性化能 (活性型の 50% 程度) を維持することを見出した。この結果は、以前の研究で同定した環境因子 (活性酸素種) によってクラスターが分解し、VnfA が失活することと対照的であり、その生理的意義に興味をもたれる。

#### Biochemical Pharmacology

### 糖質コルチコイドはリポ多糖刺激時に $I\kappa B\zeta$ 依存的に誘導される抗菌タンパク質 lipocalin 2 と pentraxin 3 の発現を増強する

山崎 創<sup>1</sup>; 審良静男<sup>2,3</sup>; 住本英樹<sup>1</sup> (<sup>1</sup>九州大学大学院医学研究科化学分野; <sup>2</sup>大阪大学免疫学フロンティア研究センター自然免疫学研究室; <sup>3</sup>大阪大学微生物病研究所自然免疫学分野)

糖質コルチコイドは、リポ多糖の刺激によって誘導される炎症メディエーターの産生を抑制することが知られていた。今回、2 つの抗菌タンパク質 (リポカリン 2 とペントラキシン 3) の遺伝子の発現に対しては逆に増強効果があることを示した。この増強には、調節因子  $I\kappa B\zeta$  が結合した NF- $\kappa B$  および糖質コルチコイドが結合したその受容体が、同時に遺伝子発現制御領域に結合することが必要であった。

### Molecular Biology General

ホスファチジルエタノールアミンプラスマローゲンは、 $\gamma$ -セクレターゼ活性に対するホスファチジルエタノールアミンの抑制効果を増強する

小野寺智子<sup>1</sup>; 二井勇人<sup>2</sup>; 菅 英一郎<sup>1</sup>; 阿部直樹<sup>1</sup>; 内田隆史<sup>2</sup>; 神尾好是<sup>3</sup>; 金子 淳<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東北大学大学院農学研究科生物産業創成科学専攻; <sup>2</sup>東北大学大学院農学研究科生物応用生命科学専攻; <sup>3</sup>尚絅学院大学大学院総合人間科学研究科健康栄養科学専攻)

プラスマローゲンは動物や嫌気性菌の生体膜に分布するアルケニルエーテルリン脂質である。我々はアミロイド $\beta$ タンパク質を生産する膜酵素 $\gamma$ -セクレターゼとAPP基質を発現する酵母ミクロソームを用いた再構成プロテオリポソームの解析から、エタノールアミンリン脂質中のプラズマローゲン型脂質の増加が酵素活性阻害を増大することを見いだした。嫌気性細菌細胞膜由来のエタノールアミンプラズマローゲンでも同様の効果が見られた。

### Gene Expression

**Identification of two promoters for human D-amino acid oxidase gene: implication for the differential promoter regulation mediated by PAX5/PAX2**

Diem Hong Tran<sup>1</sup>; Yuji Shishido<sup>2</sup>; Seong Pil Chung<sup>1</sup>; Huong Thi Thanh Trinh<sup>1</sup>; Kazuko Yorita<sup>1</sup>; Takashi Sakai<sup>1</sup>; Kiyoshi Fukui<sup>1,2,3</sup> (<sup>1</sup>Division of Enzyme Pathophysiology, <sup>2</sup>Division of Enzyme Literacy, The Institute for Enzyme Research (KOSOKEN), The University of Tokushima; <sup>3</sup>Japan Science and Technology Agency, CREST, 3-18-15 Kuramoto, Tokushima 770-8503, Japan)  
Keywords: D-amino acid oxidase, promoter, transcription factor, PAX5, PAX2

### DNA-Protein Interaction

蛍光プローブ法を用いた SoxR-プロモーター複合体におけるレドックス依存DNAの構造変化

藤川麻由; 小林一雄; 古澤孝弘 (大阪大学産業科学研究所)

DNAに組み込むことができる蛍光プローブを用いて、酸化ストレスに応答する転写因子SoxRの[2Fe-2S]の酸化還元に伴うプロモーターDNAの構造変化を検討した。還元剤の添加により、プロモーターDNAの中心部に2-アミノプリンを組み込んだDNAでは大きな蛍光強度の減少が観察された。他の部位については、その変化が小さく、DNAの中心部でのみ、局所的な構造変化がおこることが確かめられた。

### Biotechnology General

**Bacillus subtilis degSU operon is regulated by the ClpXP-Spx regulated proteolysis system**

Yuh Shiwa<sup>1</sup>; Hirofumi Yoshikawa<sup>1</sup>; Teruo Tanaka<sup>2</sup>; Mitsuo Ogura<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Genome Research Center, NODAI Research Institute, Tokyo University of Agriculture, 1-1-1 Sakuragaoka, Tokyo 156-8502, Japan; <sup>2</sup>Institute of Oceanic Research and Development, Tokai University, 3-20-1 Orido-Shimizu, Shizuoka 424-8610, Japan)

Keywords: glucose induction, proteolysis, response regulator, Spx, whole-genome sequencing

### RNA Technology

**固相化DNAプローブ法を用いたtRNAの大量精製法の確立と新しいDNA固定化法の開発**

風山 愛<sup>1</sup>; 山上龍太<sup>1</sup>; 横川隆志<sup>2</sup>; 堀 弘幸<sup>1</sup> (<sup>1</sup>愛媛大学大学院理工学研究科; <sup>2</sup>岐阜大学工学部生命工学科)

固相化DNAプローブ法は、特定のtRNAを精製する方法であるが、tRNAを大量に精製するには多くの時間と労力を要し、高温による処理のため、ビオチン-ストレプトアビジン結合が弱まり、プローブの脱落によるカラムの劣化が激しいという問題点があった。これらを克服するため、まず大量精製法を確立し、次に、カラムの劣化を防ぐため、DNAポリメラーゼを用いた共有結合による新しいDNA固定化法を開発した。