

Journal of Biochemistry

Vol. 157, No. 6 (2015 年 6 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

テイルアンカー型タンパク質の小胞体膜挿入機構と CAML による制御

山本泰憲；匂坂敏朗（神戸大学大学院医学研究科生理学・細胞生物学講座膜動態学分野）

テイルアンカー型タンパク質は膜透過装置トランスロコンを介さない経路で小胞体膜に挿入される。この膜挿入装置として、酵母における GET 複合体および私どもが明らかにした高等動物における CAML-WRB 複合体がある。本総説では、これらの膜挿入装置の分子機構を概説するとともに、CAML がシグナル伝達因子としても機能することに着目し、小胞体膜挿入と細胞内シグナル伝達との間の機能関係の可能性について論じる。

Src がシグナルを制御するマイクロ RNA

小根山千歳^{1,2}；岡田雅人²（¹愛知県がんセンター研究所感染腫瘍学部（現所属）；²大阪大学微生物病研究所発癌制御研究分野）

最初に同定されたがん原遺伝子産物かつ代表的なチロシンキナーゼである c-Src は、様々ながんにおいて発現・機能の亢進が知られている。正常細胞における Src シグナルは厳密に制御され、その破綻はがんの進展に深く関与する。本稿では、Src シグナルの制御機構としてのマイクロ RNA に焦点を当て、その標的遺伝子との相互作用とがん進展に果たす役割について、最近の筆者らの知見を中心に紹介する。

Protein Structure

人工ビオチンアナログに特異的に結合するストレプトアビジン変異体の分子設計

川戸達矢¹；溝端栄一¹；清水洋平²；飯塚友洋¹；山本倫宏²；高須典明²；松岡雅裕³；松村浩由¹；児玉龍彦³；金井 求²；土居洋文³；井上 豪¹；杉山 暁⁴（¹大阪大学大学院工学研究科応用化学専攻；²東京大学大学院薬学研究科；³東京大学先端科学技術研究センター；⁴東京大学アイソトープ総合センター）

Streptavidin (SA)-Biotin (BTN) 結合は高い親和性を有し ($K_d = 10^{-15}$ M)、近年、抗体と組み合わせた癌のプレターゲット治療法が注目されているが、SA と生体中の天然 BTN との結合が問題とされていた。本論文では、X 線結晶構造解析に基づく分子設計を行い、最終的に非天然 BTN アナログとは $K_d = 5.9 \times 10^{-7}$ M で結合するが、BTN とは結合しない SA 変異体の開発に成功した。

Protein Interaction and Recognition

PriC の C 末ドメインの塩基性および芳香族性残基は一本鎖 DNA 結合および SSB 結合に関与する

荒牧峻彦¹；阿部義人¹；古谷香織¹；片山 勉²；植田 正¹（¹九州大学薬学研究院タンパク質創薬学分野；²九州大学薬学研究院分子生物薬学分野）

大腸菌においては DNA 損傷後、DNA 複製は一時的に停止し、修復後に DNA-蛋白質複合体プライモソームを起点として DNA 複製が再開されると考えられている。本研究ではプライモソームの一つの因子である PriC の塩基性および芳香族性アミノ酸の変異体を作成し、一本鎖 DNA および SSB に対する結合を調べた。その結果、いくつかの残基がこれらの結合に関与しており、その残基の一部が重複していることを見いだした。

Enzymology

マクロファージにおける小胞体アミノペプチダーゼ 1 による基質依存性一酸化窒素合成

後藤芳邦¹；小川健司²；中村孝博^{1,3}；服部 明⁴；辻本雅文¹（¹帝京平成大学薬学部；²理化学研究所ケミカルゲノミクス研究グループ；³明治大学農学部生命科学科；⁴京都大学大学院薬学研究科医薬創成情報科学専攻）

小胞体アミノペプチダーゼ 1 (ERAP1) は小胞体内腔で MHC クラス I 提示抗原ペプチドの最終プロセッシングを担う酵素である。一方、リポ多糖とインターフェロン- γ により活性化されたマクロファージでは ERAP1 は細胞外へと分泌され、貪食を亢進する。本研究では、分泌された ERAP1 がその酵素活性を介して基質となるペプチドからアルギニンを遊離させ、マクロファージの一酸化窒素合成に寄与しうることを明らかにした。

グリコーゲンホスホリラーゼの貯蔵部位の性質と機能

牧野泰士；藤井雄太；谷口 基（大阪府立大学大学院理学系研究科分子科学専攻）

グリコーゲンホスホリラーゼ (GP) の各サブユニットには、二つのマルトオリゴ糖結合部位（貯蔵部位と触媒部位）が存在する。本研究では、貯蔵部位にマルトオリゴ糖が結合しても触媒部位の働きに直接的な影響が及ばないことを示した。また、GP のグリコーゲンへの結合が、イオン強度やグリコーゲンの三次元構造に依存することを示した。糖尿病治療薬としての GP 阻害剤の評価は、低分子基質でも行うことが望ましいと言える。

*Trichoderma viride*由来抗腫瘍性酵素L-リシン α -オキシダーゼの組換え発現と分子特性について

天野万里¹; 水口春香¹; 佐野宰久²; 近藤裕輝²; 新屋敷健吾¹; 稲垣純子³; 田村 隆¹; 川口辰也²; 日下部均⁴; 今田勝巳²; 稲垣賢二¹ (¹岡山大学大学院環境生命科学研究科生物機能化学講座; ²大阪大学大学院理学研究科高分子科学専攻; ³岡山大学大学院医歯薬総合研究科; ⁴(株)エンザイム・センサ)

L-リシン α -オキシダーゼ (LysOX) はL-リシンの酸化的脱アミノ化を触媒するフラビン酵素である。本研究ではまずLysOXの抗腫瘍性と正常細胞への細胞毒性が少ないことを確認した。次に取得した完全長のcDNAを用い放線菌 *Streptomyces lividans* による組換え発現系を構築し、組換えLysOXの性質検討を行った。またLysOXのX線結晶構造解析を行い、基質特異性に関与する構造的特徴を明らかにした。

Biochemistry in Diseases and Aging

An early endosome regulator, Rab5b, is an LRRK2 kinase substrate

Hye Jin Yun¹; Hyejung Kim²; Inhwa Ga²; Hakjin Oh²; Dong Hwan Ho^{2,3}; Jiyoung Kim²; Hyemyung Seo³; Ilhong Son^{2,4}; Wongi Seol^{1,2} (¹Institute for Brain Science and Technology, Inje University, Gaegumdong, Busanjinju, Busan, South Korea; ²InAm Neuroscience Research Center, Sanbon Medical Center, College of Medicine, Wonkwang University, Sanbondong, Gunposhi, Gyeonggi-do, South Korea; ³Department of Molecular and Life Sciences, Hanyang University, Ansanshi, Gyeonggi-do, South Korea; ⁴Department of Neurology, Sanbon Medical Center, College of Medicine, Wonkwang University, Sanbondong, Gunposhi, Gyeonggi-do, South Korea)

Keywords: GTPase activity, kinase substrate, LRRK2, Parkinson's disease, Rab5

Molecular Biology General

大腸菌FプラスミドSopAの多量体化におけるDNAとSopBの新たな役割

新井 唯; 花井 亮 (立教大学理学部生命理学科)

Fプラスミドの分配遺伝子 *sopABC* の産物のSopAの、ATP存在下での重合と脱重合のキネティクスを濁度で測定した。次の3点が明らかになった。(1) 低濃度のプラスミドDNAは、重合の核形成を加速するとともに、初期バーストを誘導する。この効果はDNAの長さや配列に依存する。(2) SopBは脱重合をも加速する。(3) SopBの2量体中のドメイン配置がSopAとの相互作用に重要である。

A highly effective and adjustable dual plasmid system for O-GlcNAcylated recombinant protein production in *E. coli*

Cuifang Han; Hui Shan; Chuanlin Bi; Xinling Zhang; Jieqiong Qi; Boyuan Zhang; Yuchao Gu; Wengong Yu (Key Laboratory

of Marine Drugs, Chinese Ministry of Education, Key Laboratory of Glycoscience & Glycotechnology of Shandong Province, School of Medicine and Pharmacy, Ocean University of China, 5 Yushan Road, Qingdao 266003, China

Keywords: coexpression, CKII, OGT, O-GlcNAc, p53

Replication and Recombination

ヒト皮膚がん細胞で見つかったMCM4のG364R変異はMCM4/6/7複合体のDNAヘリカーゼ活性に影響を与える

石見幸男; 入江大輝 (茨城大学理学部)

ヒトMCM4のG364R変異タンパク質は、MCM6やMCM7との結合に支障をきたさなかったが、MCM4 (G364R)/6/7複合体のヘリカーゼ活性は野生型複合体の30-50%に低下していた。変異MCM4/6/7複合体の一本鎖DNA結合能とATP分解活性は低下しないことから、一本鎖DNA上を移動する段階で不都合があると考えられる。この変異は、由来する細胞のがん化に寄与すると考えられる。

Tumor and Immunology

ショウジョウバエにおけるペプチドグリカン受容体による大腸菌遺伝子発現の誘導

孔 慶権¹; 中井雄治^{2,4}; 黒田奈々恵³; 白土明子^{1,3}; 永長一茂^{1,4}; 中西義信^{1,3} (¹金沢大学医薬保健学総合研究科創薬科学専攻; ²東京大学農学生命科学研究科機能性食品ゲノミクス講座; ³金沢大学医薬保健学域薬学類; ⁴現弘前大学食料科学研究所)

私たちは、「細菌は宿主免疫に感知される時に自身の遺伝子発現を変動させる」と仮定し、ショウジョウバエのペプチドグリカン受容体PGRP-LCを添加した大腸菌の遺伝子発現を調べた。その結果、PGRP-LC添加で300以上の遺伝子の発現が変化した。このうち *nlpI* 遺伝子では、ショウジョウバエへの感染時にPGRP-LC依存の発現亢進が観察された。これより、宿主免疫が細菌を感知する時に細菌も宿主を感知して遺伝子発現を変化させることが示された。

Gene and Protein Engineering

自己溶菌する多細胞性組換えシアノバクテリアによるバイオ燃料の大量生産と簡便回収

吉田聡美¹; 高橋正俊¹; 池田絢江¹; 福田寛史¹; 北崎千富美^{1,2}; 朝山宗彦^{1,2} (¹茨城大学農学部; ²日本科学技術振興機構さきがけプロジェクト)

半糸状性多細胞シアノバクテリア *Limnothrix/Pseudanabaena* sp. ABRG5-3株は、培養条件に依存し自己溶菌する特性を有するが、これは細胞内でポリリン酸蓄積とチラコイド膜崩壊を伴う(北崎ら 2013)。本研究では、バイオ燃料であるアルカン(飽和炭化水素、 $C_{17}H_{36}$)の大量発現と簡便回収について組換えABRGf並びに *Synechocystis* sp. PCC6803株を用いて検証した。その結果、アルカン蓄積量は、各々の組換え株で乾燥細胞重量当たり約50又は60%であった。更に、窒素源欠乏BG11培地で細胞を培養する

と、アルカン生産と溶菌が誘導され、溶菌上澄液から標的物質の簡便回収に成功した。

Preparation of monoPEGylated Cyanovirin-N's derivative and its anti-influenza A virus bioactivity *in vitro* and *in vivo*

Chongchao Wu^{1,2}; Wei Chen¹; Jia Chen¹; Bo Han^{1,2}; Zhou Peng³; Feng Ge^{1,4}; Bo Wei¹; Mingxian Liu¹; Meiyang Zhang¹; Chuiwen Qian¹; Zhibo Hou¹; Ge Liu⁵; Chaowan Guo⁵; Yifei Wang¹; Kaio Kitazato⁵; Guoying Yu⁵; Chunbin Zou⁶; Sheng Xiong¹ (¹Institute of Biomedicine & National Engineering Research Center of Genetic Medicine, Department of Cellular Biology, Jinan University, Guangzhou 510632, Guangdong, People's Republic of China; ²Key Laboratory of Systems Biomedicine (Ministry of Education), Shanghai Centre for Systems Biomedicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, People's Republic of China; ³Department of Pharmacy, College of Food and Pharmacy & Medical, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316002, People's Republic of China; ⁴Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, People's Republic of China; ⁵Division of Molecular Pharmacology of Infectious Agents, Department of Molecular Microbiology and Immunology, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, Nagasaki City, Nagasaki Prefecture 852-2521, Japan; ⁶Department of Medicine, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA 15213, USA) Keywords: Cyanovirin-N, influenza A virus, mice, PEGylation, polypeptide linker

Cell and Tissue Engineering

増殖シグナル伝達抗体のドメイン構造は抗体ライブラリー選択の結果に大きく影響を与える

吉田理恵¹; 河原正浩²; 長棟輝行^{1,2} (¹東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻; ²東京大学大学院工学系研究科化学生命工学専攻)

既往の研究で、サイトカイン受容体と抗体を連結した増殖シグナル伝達抗体を細胞膜上で発現させ、抗原結合に伴う細胞増殖を指標とした抗体選択系を構築した。本研究では、増殖シグナル伝達抗体の受容体細胞外ドメインを除去して抗体ライブラリー選択を行った結果、得られた抗体クローンの標的抗原に対する親和性は既往のものよりも低かった。従って、増殖シグナル伝達抗体のドメイン構造が抗体選択結果に影響することが示された。

Journal of Biochemistry

Vol. 158, No. 1 (2015年7月発行)

和文ダイジェスト

JB Reviews

Thermodynamics of antibody—antigen interaction revealed by mutation analysis of antibody variable regions

Hiroki Akiba¹; Kouhei Tsumoto^{1,2} (¹Department of Bioengineering, School of Engineering, The University of Tokyo, 7-7-7 Hongo, Bunkyo-Ku, Tokyo 113-3656; ²Medical Proteomics Laboratory, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, 4-4-4 Shirokanedai, Minato-Ku, Tokyo 108-8639 Japan)

Keywords: interaction, isothermal titration calorimetry, kinetics, protein structure, thermodynamics

正常上皮細胞による抗腫瘍作用—哺乳類における正常上皮細胞と変異細胞の境界の細胞競合現象—

梶田美穂子; 藤田恭之 (北海道大学遺伝子病制御研究所; 北海道大学大学院総合科学院分子腫瘍分野)

性質の異なる同種の細胞が共存した際に「細胞競合」と呼ばれる現象が生じ、細胞間相互作用によって細胞社会の「勝者」と「敗者」が選別され、勝者のみが生き残っていく。この現象はショウジョウバエで発見されたが、哺乳類においても保存された現象であり、哺乳類細胞競合が発生や疾患に深く関与していることが明らかになってきた。本稿では主に哺乳類細胞競合について近年明らかになってきた知見を紹介する。

Biochemistry General

Identification and characterization of a cell division-regulating kinase AKB1 (associated kinase of *Trypanosoma brucei* 14-4-4) through proteomics study of the Tb14-4-4 binding proteins

Masahiro Inoue¹; Kenta Okamoto²; Haruki Uemura³; Kouichi Yasuda¹; Yoshihiko Motohara⁴; Kouichi Morita²; Makoto Hiro-mura⁵; E. Premkumar Reddy⁶; Toshihide Fukuma¹; Nobuo Horikoshi⁷ (¹Division of Eukaryotic Microbiology, Department of Infectious Medicine, Kurume University School of Medicine, 67 Asahi-machi Kurume, Fukuoka 830-0011, Japan; ²Department of Virology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, 1-12-2 Sakamoto, Nagasaki 852-2523, Japan; ³Department of Protozoology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, 1-12-2 Sakamoto, Nagasaki 852-2523, Japan; ⁴Fukuoka Tokushukai Medical Center, 4-4 Sugu-Kita, Kasuga, Fukuoka 816-6864, Japan; ⁵Laboratory of Hygienic Chemistry, Daiichi

University of Pharmacy, 22-2, Tamagawa-cho, Minami-ku, Fukuoka 815-5511, Japan; ⁶Department of Oncological Sciences, Experimental Therapeutics Institute, Mount Sinai School of Medicine, 1425 Madison Avenue, Room 1520, New York, NY 10029, USA; ⁷Department of Radiation Oncology, Houston Methodist Research Institute, Weill Cornell Medical College, 6550 Fannin St, SM8-024, Houston, TX 77030, USA)

Keywords: 14-4-4, Kinase, Proteomics, *Trypanosoma brucei*

Protein Interaction and Recognition

β -Trefoil structure enables interactions between lectins and protease inhibitors that regulate their biological functions

Simon Žurga¹; Jure Pohleven¹; Janko Kos^{1,2}; Jerica Sabotič¹ (¹Department of Biotechnology, Jožef Stefan Institute, Jamova 39, SI-1000 Ljubljana, Slovenia; ²Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana, Aškerčeva 7, SI-1000 Ljubljana, Slovenia)

Keywords: β -trefoil fold, interaction, protease inhibitor, ricin B-like lectin, R-type domain

Glycobiology and Carbohydrate Biochemistry

免疫不全 Scid マウス消化管には α -ガラクトースエピトープ含有糖脂質を持つ乳酸菌が含まれず、GA1 のフコシル化が亢進している

岩森正男¹; 田中京子²; 足立成基³; 青木大輔²; 野村大成³ (¹近畿大学理工学部生命科学科生化学; ²慶應義塾大学医学部産婦人科; ³医薬基盤研究所疾患モデル小動物研究室) 免疫不全 Scid と対照マウス消化管の主要乳酸菌は異なっており、それぞれ *L. murinus* と *L. johnsonii* であった。 *L. murinus* が多い消化管内容物は酸性臭であり下痢を伴っていた。 *L. murinus* 優位の消化管内壁では *L. johnsonii* の受容体 GA1 をフコシル化する活性が上昇していた。 ヒト血中には自然抗体として *L. johnsonii* の α -ガラクトースエピトープ含有糖脂質を持つ糖脂質が含まれていた。

Enzymology

ハブ (*Protothrops flavoviridis*) 血清タンパク質 SSP-3 は、ハブ毒由来の新規金属プロテアーゼ flavorase を標的とする

塩井 (青木) 成留実; 西嶋あゆ美; 寺田成之 (福岡大学理学部化学科)

我々は、ハブ (*Protothrops flavoviridis*) の毒成分を阻

害する5種類のハブ血清低分子タンパク質群 (SSP-1~SSP-5) について研究を行っている。本論では SSP-3 の標的分子として新規金属プロテアーゼ flavorase を同定し、SSP-3 が flavorase に高い親和性を持ち ($K_D = 6.4 \times 10^{-9}$ M)、強く阻害する ($K_I = 6.6 \times 10^{-9}$ M) ことを証明した。

Molecular Biology General

Arkadia enhances BMP signalling through ubiquitylation and degradation of Smad6

Yutaro Tsubakihara¹; Atsuhiko Hikita^{1,2,3}; Shin Yamamoto^{1,4}; Sachi Matsushita⁵; Natsuki Matsushita⁵; Yusuke Oshima^{1,2,3,5}; Keiji Miyazawa⁶; Takeshi Imamura^{1,2,3,5} (¹Department of Molecular Medicine for Pathogenesis, Ehime University Graduate School of Medicine, Shitsukawa, Toon, Ehime; ²Division of Bio-imaging, Proteo-Science Center, Ehime University, Shitsukawa, Toon, Ehime; ³Core Research for Evolutional Science and Technology (CREST), Japan Science and Technology Agency (JST), Tokyo; ⁴Department of Gastroenterology and Metabology, Ehime University, Shitsukawa, Toon, Ehime; ⁵Translational Research Center, Ehime University Hospital, Shitsukawa, Toon, Ehime; ⁶Department of Biochemistry, Interdisciplinary Graduate School of Medicine, University of Yamanashi, Yamanashi, Japan)

Keywords: Arkadia, BMP, proteasome-dependent degradation, Smad6, ubiquitylation

Biomembranes, Organelles, and Protein Sorting

母乳中の乳脂肪球の自発的融合に対する milk fat globule EGF factor VIII (MFG-E8) の保護効果

安枝武彦¹; 大島健司¹; 中谷 肇²; 田渕幹二¹; 灘野大太¹; 松田 幹¹ (¹名古屋大学大学院生命農学研究科応用分子生命科学専攻; ²名古屋大学大学院工学研究科化学・生物工学専攻)

乳脂肪球皮膜に存在する酸性リン脂質結合タンパク質 (MFG-E8) を欠損するマウスの乳腺では異常に大きな乳脂肪球が生成した。搾乳した乳においても、乳脂肪球表面での経時的なホスファチジルセリンの増加とともに乳脂肪球の融合と巨大化が観察され、MFG-E8 あるいは EDTA の添加により顕著に抑制された。牛乳から分離した乳脂肪球画分においても脂肪球の融合が観察され、同様に MFG-E8 による抑制が確認された。