

令和 3 年 4 月 15 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06117

研究課題名(和文)心疾患に関連する新奇生理活性物質 D-グルタミン酸の合成酵素に関する研究

研究課題名(英文) Studies on the biosynthetic enzyme of the novel bioactive substance D-glutamate that is related to heart diseases

研究代表者

片根 真澄 (Katane, Masumi)

北里大学・薬学部・准教授

研究者番号：90383653

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：遊離の D-グルタミン酸(D-Glu)の合成活性を有する酵素として最近同定した、ラット Glu ラセマーゼ(L-Glu と D-Glu の相互変換を触媒する酵素)を大腸菌で発現させて精製し、その酵素学的性質・機能を解析した。また、哺乳類由来の培養細胞株を用いて、本酵素が細胞内および細胞外アミノ酸含量に与える影響を解析した。

本研究結果から、ラット Glu ラセマーゼが細胞内において D-Glu 合成酵素として機能していることが明らかになった。また、L-セリンおよび L-スレオニンの脱水による分解反応を触媒する L-セリン/L-スレオニンデヒドラターゼとしても機能していることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は以前に、生体内で D-グルタミン酸(D-Glu)を分解する酵素を同定し、この酵素の発現レベルが心不全モデルマウスで低下していることなどを明らかにした。すなわち、哺乳類は D-Glu の合成および分解経路を備えており、心機能に関連する新奇な生理活性物質として D-Glu を利用していると考えられる。

本研究では、ラット Glu ラセマーゼ(L-Glu と D-Glu の相互変換を触媒する酵素)の酵素学的性質・機能のほか、種々のアミノ酸の細胞内および細胞外含量に与える影響を解析した。本研究結果は、心不全に至る分子機構の解明や、心不全の予防薬の開発にもつながる可能性を秘めていると考えられる。

研究成果の概要(英文)： Previously, we first identified D-glutamate cyclase as its degradative enzyme in mammals, whereas its biosynthetic pathway in mammals is unclear. Glutamate racemase is a most probable candidate, which catalyzes interconversion between D-glutamate and L-glutamate. Here, we identified the cDNA encoding L-serine dehydratase-like (SDHL) as the first mammalian clone with glutamate racemase activity.

Rat SDHL was expressed in Escherichia coli, and the enzymatic properties of the recombinant were characterized. The results indicated that rat SDHL is a multifunctional enzyme with glutamate racemase activity in addition to L-serine/L-threonine dehydratase activity. Further experiments using cultured mammalian cells confirmed that D-glutamate was synthesized and L-serine and L-threonine were decomposed. It was also found that SDHL contributes to homeostasis of several other amino acids.

研究分野：分析科学 / 生化学 / 分子生物学

キーワード：グルタミン酸ラセマーゼ D-グルタミン酸合成酵素 D-グルタミン酸 L-セリン/L-スレオニンデヒドラターゼ アミノ酸ラセマーゼ アミノ酸デヒドラターゼ D-アミノ酸 心臓

1. 研究開始当初の背景

グリシン以外のアミノ酸には L-アミノ酸と D-アミノ酸の 2 種類の鏡像異性体がある。細菌などの下等生物を例外として「D-アミノ酸は生体内に存在しない」という従来の常識に反して、最近ではヒトを含めた高等生物体内に D-アミノ酸が遊離型、あるいはペプチドまたはタンパク質に結合した形で存在することが明らかにされている。特に遊離の D-セリン (D-Ser) と D-アスパラギン酸 (D-Asp) は、組織によっては L 体に匹敵する濃度で存在し、神経伝達やホルモン合成・分泌などを調節する新奇な生理活性物質として注目されている。

一方、細菌細胞壁ペプチドグリカンの構成因子の 1 つである遊離の D-グルタミン酸 (D-Glu) は、大豆といった食品中や腸内細菌に多量に含まれていることが知られている。また、ヒトを含めた哺乳類においても比較的低レベルではあるが脳や心臓、肝臓および腎臓で見出されている。我々は以前に、生体内で遊離の D-Glu を分解する唯一の酵素として、D-Glu を 5-オキソ-D-プロリンと H₂O に分解する反応を可逆的に触媒する D-Glu シクラゼを同定し (図 1)、この酵素の発現レベルが心不全モデルマウスで低下していることや、この酵素のノックアウトマウスの心臓では D-Glu 含量が著しく増加することなどを明らかにした。すなわち、哺乳類は心機能に関連する新奇な生理活性物質として D-Glu を利用していると考えられる。生体が D-Glu を新奇な生理活性物質として利用しているのであれば、細胞内および細胞外 D-Glu 含量を適切に調節するための分子機構が存在することが想定される。したがって、分解酵素である D-Glu シクラゼのみならず、D-Glu の合成酵素や分泌装置を細胞が備えている可能性が高いと考えられた。

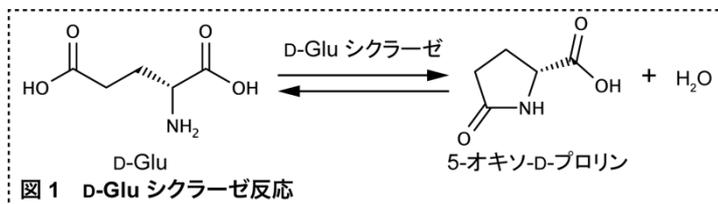


図 1 D-Glu シクラゼ反応

そこで、哺乳類に D-Glu 含量の調節機構が備わっているかどうかを解析するために、まず始めに、哺乳類のデータベース上で D-Glu 合成酵素の探索を試みた。この際、哺乳類で見出されている唯一のアミノ酸ラセマーゼ (L-アミノ酸と D-アミノ酸の相互変換を触媒する酵素) である Ser ラセマーゼが L-Ser デヒドラターゼ (L-Ser の脱水による分解反応を触媒する酵素) に相同性を示すことから、哺乳類の Glu ラセマーゼ (図 2) もこれらの酵素と共通の祖先から進化した可能性を考慮して探索した。その結果、L-Ser デヒドラターゼと相同性を示す機能未知の遺伝子を発見し、この遺伝子産物が *in vitro* で Glu ラセマーゼ活性を示すことを見出した。

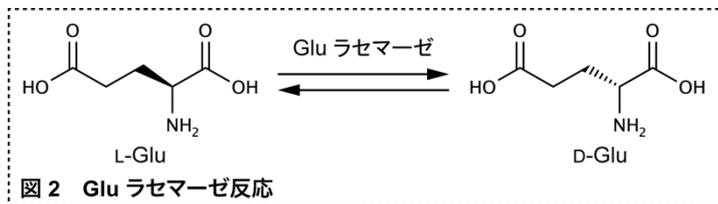


図 2 Glu ラセマーゼ反応

2. 研究の目的

本研究の目的は、遊離の D-Glu の合成活性を有する酵素として最近同定したラット Glu ラセマーゼの機能の詳細を解明することである。本酵素は哺乳類で初めて見出された Glu ラセマーゼであり、細菌で既に同定されている Glu ラセマーゼとは異なるファミリーに属する。本酵素とは別に、上述したように我々は以前に、生体内で D-Glu を分解する唯一の酵素として D-Glu シクラゼを同定し、この酵素の発現レベルが心不全モデルマウスで低下していることや、この酵素のノックアウトマウスの心臓では D-Glu 含量が著しく増加することなどを明らかにした。すなわち、哺乳類は D-Glu の合成および分解経路を備えており、心機能に関連する新奇な生理活性物質として D-Glu を利用していると考えられる。そこで本研究では、未だ有用な診断法や治療法がない心臓病の治療分野の進展に貢献する研究として、生化学および分析科学的手法を駆使し、ラット Glu ラセマーゼの酵素学的性質・機能のほか、種々のアミノ酸の細胞内および細胞外含量に与える影響の解明に向けた研究を展開した。

3. 研究の方法

(1) 哺乳類 Glu ラセマーゼの酵素学的性質・機能の解析

我々は既に、ラット Glu ラセマーゼを大腸菌で発現させて精製する実験系を確立し、酵素標品としてのラット組換え Glu ラセマーゼを調製済みであった。また、L-アミノ酸または D-アミノ酸を基質に用いた酵素反応後、反応液中に含まれるアミノ酸をメタノールで抽出し、蛍光誘導体化してから高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で光学分割・検出することにより、アミノ酸ラセマーゼ活性を (両方向の反応ともに) 正確に測定する実験系を既に確立していた。

さらに、ラット Glu ラセマーゼと相同性を示す L-Ser デヒドラターゼを含め、種々のデヒドラターゼ活性を分光学的に測定する実験系も既に確立していた。そこで本研究では、これらの測定系を用いて、ラット Glu ラセマーゼの酵素学的性質・機能の詳細を解析した。

- ① Blue-Native PAGE (変性剤を用いずに、分子量に依存した分子ふるい効果でタンパク質を分離する電気泳動法) により、本酵素のオリゴマー構造を決定した。
- ② ラット Glu ラセマーゼと相同性を示す L-Ser デヒドラターゼは、ビタミン B₆ の補酵素型であるピリドキサル-5'-リン酸 (PLP) を補酵素として要求することが知られている。これとは対照的に、細菌の Glu ラセマーゼは PLP を要求しない。そこで、PLP 酵素阻害剤であるアミノオキシ酢酸存在下でアミノ酸デヒドラターゼおよびラセマーゼ活性を測定し、本酵素の PLP 要求性を解析した。
- ③ 種々の金属イオンおよびヌクレオチド存在下でアミノ酸デヒドラターゼおよびラセマーゼ活性を測定し、本酵素の補因子要求性を解析した。
- ④ 様々な pH および温度でアミノ酸デヒドラターゼおよびラセマーゼ活性を測定し、本酵素の至適 pH および至適温度を決定した。
- ⑤ 種々のヒドロキシアミノ酸それぞれを基質に用いてデヒドラターゼ活性を測定し、本酵素のデヒドラターゼ反応における基質特異性を決定した。また、種々のアミノ酸それぞれを基質に用いてラセマーゼ活性を測定し、本酵素のラセマーゼ反応における基質特異性を決定した。
- ⑥ 基質となるアミノ酸の濃度を変動させて本酵素の初速度を測定し、各基質に対するミカエリス定数 (K_m)、分子活性 (k_{cat})、および触媒効率 (k_{cat}/K_m) を決定した。

(2) 哺乳類 Glu ラセマーゼの細胞内および細胞外アミノ酸含量に与える影響の解析

我々は既に、哺乳類由来培養細胞株の細胞内および培養上清中のアミノ酸を抽出し、蛍光誘導体化してから HPLC で光学分割・検出することにより、その含量を正確に測定する実験系を確立していた。そこで本研究では、この測定系を用いて、ラット Glu ラセマーゼの細胞内および細胞外アミノ酸含量に与える影響を解析した。

- ① ラット Glu ラセマーゼの cDNA 配列が、哺乳類細胞発現用ベクターにクローニングされたプラスミドを構築した。引き続き、構築したプラスミドをヒト由来培養細胞株 (293 細胞) に導入し、薬剤選別後に形成された細胞のコロニーを単離することにより、本酵素を安定的に高発現する細胞株 (293-rSTDHgr-2) を樹立した。
- ② 樹立した細胞を定法に従って一定期間培養し、 1.5×10^6 個の細胞を 6-well プレートの各 well に播種した。翌日に培地を交換し、その 1 日後 (Day 1) または 3 日後 (Day 3) に細胞および培養上清を回収した。この際、回収した細胞はすみやかに破碎した。引き続き、メタノールを用いた除タンパク後、遠心減圧乾固した。その残渣に含まれるアミノ酸含量を、HPLC を用いた分離・検出法により定量した。なお、空ベクターを 293 細胞に導入することにより樹立した、薬剤耐性を獲得してはいるが、ラット Glu ラセマーゼは発現していない細胞株 (293/NEO) をコントロールとして用い、同様に解析した。

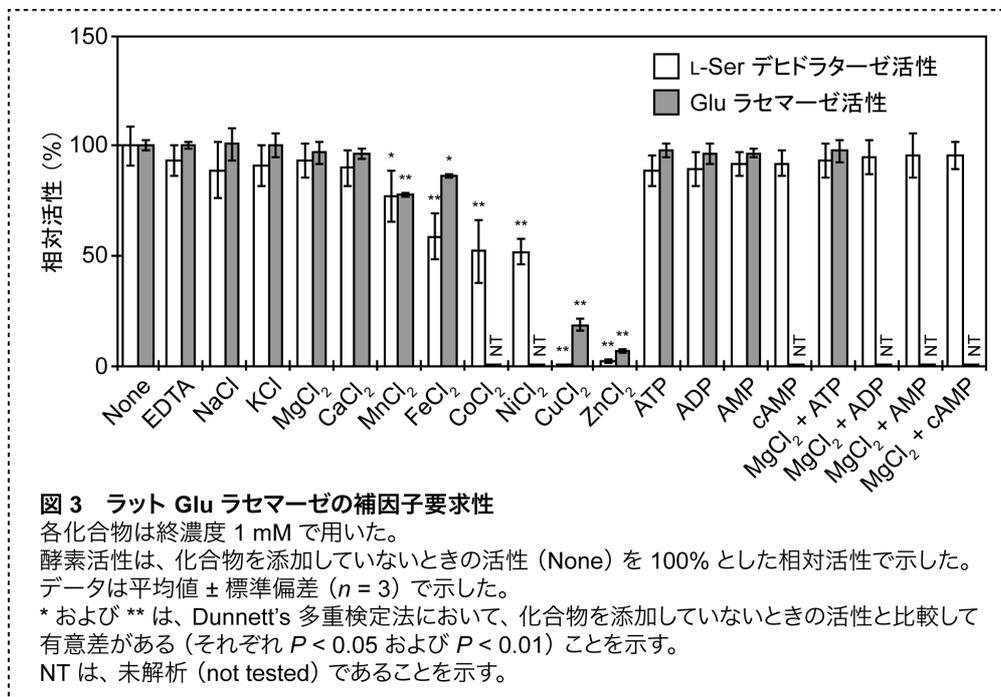
4. 研究成果

(1) ラット Glu ラセマーゼのアミノ酸デヒドラターゼ活性

- ① Blue-Native PAGE で解析したところ、22 kDa と 66 kDa のマーカータンパク質の間にバンドが認められた。ラット組換え Glu ラセマーゼの推定分子量が 39110 Da であることから、本酵素のオリゴマー構造はモノマーであることが示唆された。
- ② ラット組換え Glu ラセマーゼの 10 mM L-Ser に対するデヒドラターゼ活性の比活性は $5.78 \pm 0.71 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg protein}$ (平均値 \pm 標準偏差, $n=3$) であった。この活性は、1 mM アミノオキシ酢酸存在下でほぼ完全に消失した。すなわち、本酵素が PLP を補酵素として要求することが示唆された。
- ③ 二価陽イオンのキレーターである EDTA の酵素反応液への添加は、ラット組換え Glu ラセマーゼの L-Ser デヒドラターゼ活性に影響を与えなかった (図 3)。また、試みた化合物のうち、NaCl、KCl、MgCl₂、CaCl₂、ATP、ADP、AMP、cAMP、MgCl₂ + ATP、MgCl₂ + ADP、MgCl₂ + AMP、および MgCl₂ + cAMP の添加は影響を与えなかった。一方、MnCl₂、FeCl₂、CoCl₂、NiCl₂、CuCl₂、および ZnCl₂ の添加は L-Ser デヒドラターゼ活性を有意に阻害した (図 3)。これらの結果から、ラット Glu ラセマーゼは、その L-Ser デヒドラターゼ活性を発揮するうえで、特定の金属イオンやヌクレオチドを要求しないことが示唆された。
- ④ ラット組換え Glu ラセマーゼの L-Ser デヒドラターゼ反応における至適 pH は 9.0 であり、至適温度は 45°C であることが明らかになった。
- ⑤ L-Ser、D-Ser、L-スレオニン (L-Thr)、D-Thr、L-threo-3-ヒドロキシアスパラギン酸、D、L-threo-3-ヒドロキシアスパラギン酸、L-erythro-3-ヒドロキシアスパラギン酸、および D、L-5-ヒドロキシリジンを基質に用いて、ラット組換え Glu ラセマーゼのデヒドラターゼ反応における基質特異性を解析した。その結果、本酵素は D-Ser と L-Thr に対する活性も有してお

り、10 mM D-Ser および L-Thr それぞれに対する比活性は 0.0260 ± 0.0010 および 2.64 ± 0.10 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein (平均値 \pm 標準偏差、 $n=3$) であることが明らかになった。

- ⑥ 基質として L-Ser、D-Ser、および L-Thr を用いて、ラット組換え Glu ラセマーゼのデヒドラターゼ反応における動力学定数を決定したところ、 K_m はそれぞれ 27.6 ± 1.2 、 21.3 ± 0.7 、および 6.13 ± 0.74 mM (平均値 \pm 標準偏差、 $n=3$) であることが明らかになった。また、 k_{cat} はそれぞれ 844 ± 102 、 3.28 ± 0.15 、および 152 ± 24 min^{-1} (平均値 \pm 標準偏差、 $n=3$) であり、 k_{cat}/K_m はそれぞれ 30.6 ± 4.0 、 0.154 ± 0.006 、および 25.1 ± 4.8 $\text{min}^{-1} \cdot \text{mM}^{-1}$ (平均値 \pm 標準偏差、 $n=3$) であることが明らかになった。



(2) ラット Glu ラセマーゼのアミノ酸ラセマーゼ活性

- ① L-Glu、D-Glu、L-Asp、D-Asp、L-Ser、D-Ser、L-アラニン (L-Ala)、および D-Ala を基質を用いて、ラット組換え Glu ラセマーゼのラセマーゼ反応における基質特異性を解析した。その結果、本酵素が Glu ラセマーゼ活性を有しており、10 mM L-Glu および D-Glu それぞれに対する比活性は 8.06 ± 1.49 および 3.89 ± 0.41 $\text{nmol}/\text{min}/\text{mg}$ protein (平均値 \pm 標準偏差、 $n=3$) であることが明らかになった。また、本酵素が Asp ラセマーゼ、Ser ラセマーゼ、および Ala ラセマーゼ活性は有していないことが明らかになった。
- ② ラット組換え Glu ラセマーゼの L-Glu および D-Glu に対するラセマーゼ活性は、1 mM アミノオキシ酢酸存在下でほぼ完全に消失した。すなわち、本酵素が PLP を補酵素として要求することが示唆された。
- ③ EDTA の酵素反応液への添加は、ラット組換え Glu ラセマーゼの Glu ラセマーゼ活性に影響を与えなかった (図 3)。また、試みた化合物のうち、NaCl、KCl、MgCl₂、CaCl₂、ATP、ADP、AMP、および MgCl₂ + ATP の添加は影響を与えなかった。一方、MnCl₂、FeCl₂、CuCl₂、および ZnCl₂ の添加は Glu ラセマーゼ活性を有意に阻害した (図 3)。これらの結果から、ラット Glu ラセマーゼは、その Glu ラセマーゼ活性を発揮するうえで、特定の金属イオンやヌクレオチドを要求しないことが示唆された。
- ④ ラット組換え Glu ラセマーゼの Glu ラセマーゼ反応における至適 pH は 8.0 であり、至適温度は 45°C であることが明らかになった。
- ⑤ 基質として L-Glu および D-Glu を用いて、ラット組換え Glu ラセマーゼのラセマーゼ反応における動力学定数を決定したところ、 K_m はそれぞれ 111 ± 22 および 147 ± 30 mM (平均値 \pm 標準偏差、 $n=3$) であることが明らかになった。また、 k_{cat} はそれぞれ 3.71 ± 0.17 および 3.18 ± 0.50 min^{-1} (平均値 \pm 標準偏差、 $n=3$) であり、 k_{cat}/K_m はそれぞれ 0.0343 ± 0.0071 および 0.0218 ± 0.0010 $\text{min}^{-1} \cdot \text{mM}^{-1}$ (平均値 \pm 標準偏差、 $n=3$) であることが明らかになった。

(3) ラット Glu ラセマーゼの発現が細胞内および培養上清中アミノ酸含量に与える影響

- ① ラット Glu ラセマーゼを安定的に高発現する細胞株である 293-rSTDHgr-2、およびコントロールとしての細胞株である 293/NEO を用いて細胞増殖の速度を解析した。その結果、ラット Glu ラセマーゼの発現は細胞増殖に影響を与えないことが明らかになった。

- ② 293-rSTDHgr-2 の D-Glu 含量に関して、293/NEO と比較し、Day 1 では、細胞内含量が有意に上昇し、培養上清中含量に有意差は認められず、培養系全体の含量は有意に上昇していた (図 4)。また、Day 3 では、細胞内含量に有意差はないが上昇の傾向があり、培養上清中含量が有意に上昇し、培養系全体の含量は有意に上昇していた。これらの結果から、ラット Glu ラセマーゼが実際の細胞内において D-Glu の合成酵素 (Glu ラセマーゼ) として機能していることが示唆された。
- ③ 293-rSTDHgr-2 の D-Ser 含量に関して、293/NEO と比較し、Day 1 と Day 3 ともに、細胞内、培養上清中、および培養系全体の含量に有意差は認められなかった (図 4)。これらの結果から、ラット Glu ラセマーゼが実際の細胞内において D-Ser の分解酵素 (D-Ser デヒドラターゼ) としては機能していないことが示唆された。
- ④ 293-rSTDHgr-2 の L-Ser 含量に関して、293/NEO と比較し、Day 1 では、細胞内含量に有意差はないが培養上清中含量が有意に低下しており、培養系全体の含量が有意に低下していた (図 4)。また、Day 3 では、細胞内含量が有意に上昇している一方で、培養上清中含量が有意に低下しており、培養系全体の含量が有意に低下していた。これらの結果から、ラット Glu ラセマーゼが実際の細胞内において L-Ser の分解酵素 (L-Ser デヒドラターゼ) として機能していることが示唆された。
- ⑤ 293-rSTDHgr-2 の L-Thr 含量に関して、293/NEO と比較し、Day 1 では、細胞内含量、培養上清中含量、および培養系全体の含量ともに有意差は認められなかった (図 4)。一方、Day 3 では、細胞内含量に有意差は認められず、培養上清中含量が有意に低下しており、培養系全体の含量が有意に低下していた。これらの結果から、ラット Glu ラセマーゼが実際の細胞内において L-Thr の分解酵素 (L-Thr デヒドラターゼ) として機能していることが示唆された。

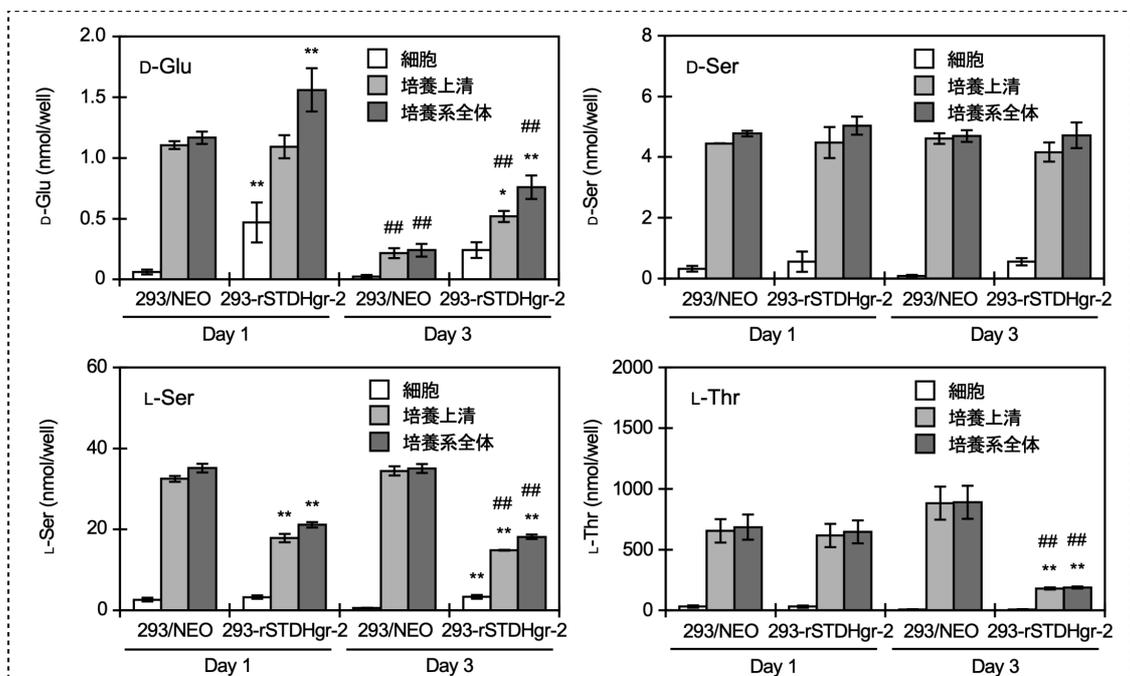


図 4 ラット Glu ラセマーゼの発現が細胞内および培養上清中アミノ酸含量に与える影響

培養系全体の値は、細胞の値と培養上清の値を足し合わせた値を示す。

データは平均値 ± 標準偏差 (n = 3) で示した。

* および ** は、Tukey-Kramer 多重検定法において、同じ培養期間 (Day 1 または Day 3) の 293/NEO の値と比較して有意差がある (それぞれ $P < 0.05$ および $P < 0.01$) ことを示す。

は、Tukey-Kramer 多重検定法において、同じ細胞 (293/NEO または 293-rSTDHgr-2) の Day 1 の値と比較して有意差がある ($P < 0.01$) ことを示す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hanai Toshihiko, Katane Masumi, Homma Hiroshi	4. 巻 2
2. 論文標題 Quantitative in silico analysis of selective enzyme reaction of mammalian D-amino acid oxidase and acidic D-amino acid oxidase mutants	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 SDRP Journal of Computational Chemistry & Molecular Modelling	6. 最初と最後の頁 1~8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.25177/JCCMM.2.3.2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Katane Masumi, Ariyoshi Makoto, Tateishi Shuhei, Koiwai Sachi, Takaku Kaoruko, Nagai Kenichiro, Nakayama Kazuki, Saitoh Yasuaki, Miyamoto Tetsuya, Sekine Masae, Mita Masashi, Hamase Kenji, Matoba Satoaki, Homma Hiroshi	4. 巻 654
2. 論文標題 Structural and enzymatic properties of mammalian D-glutamate cyclase	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Archives of Biochemistry and Biophysics	6. 最初と最後の頁 10~18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.abb.2018.07.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakade Yusuke, (第2著者 ~ 第22著者), Katane Masumi, Homma Hiroshi, Morita Hidetoshi, Suda Wataru, Hattori Masahira, Wada Takashi	4. 巻 3
2. 論文標題 Gut microbiota-derived D-serine protects against acute kidney injury	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.97957	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Saitoh Yasuaki, Katane Masumi, Miyamoto Tetsuya, Sekine Masae, Sakamoto Taro, Imai Hirotaka, Homma Hiroshi	4. 巻 286
2. 論文標題 Secreted D-aspartate oxidase functions in C. elegans reproduction and development	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 124~138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.14691	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyamoto Tetsuya, Katane Masumi, Saitoh Yasuaki, Sekine Masae, Homma Hiroshi	4. 巻 286
2. 論文標題 Elucidation of the D-lysine biosynthetic pathway in the hyperthermophile Thermotoga maritima	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 601 ~ 614
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.14720	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Taniguchi Seiji, Chosrowjan Haik, Ito Shoji, Miyasaka Hiroshi, Katane Masumi, Homma Hiroshi, Tanaka Fumio, Nueangaudom Arthit, Lugsanangarm Kiattisak, Kokpol Sirirat	4. 巻 198
2. 論文標題 Comparative studies on picosecond-resolved fluorescence of D-amino acid oxidases from human with one from porcine kidney. Photoinduced electron transfer from aromatic amino acids to the excited flavin	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology	6. 最初と最後の頁 111546 ~ 111546
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphotobiol.2019.111546	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 De Rosa Arianna, Mastrostefano Francesca, Di Maio Anna, Nuzzo Tommaso, Saitoh Yasuaki, Katane Masumi, Isidori Andrea M., Caputo Viviana, Marotta Pina, Falco Geppino, De Stefano Maria Egle, Homma Hiroshi, Usiello Alessandro, Errico Francesco	4. 巻 52
2. 論文標題 Prenatal expression of D-aspartate oxidase causes early cerebral D-aspartate depletion and influences brain morphology and cognitive functions at adulthood	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Amino Acids	6. 最初と最後の頁 597 ~ 617
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00726-020-02839-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 齋藤 康昭、片根 真澄、本間 浩	4. 巻 52
2. 論文標題 寿命制御因子としての D-アミノ酸	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 細胞	6. 最初と最後の頁 50 ~ 52
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Katane Masumi, Nakasako Kento, Yako Kanato, Saitoh Yasuaki, Sekine Masae, Homma Hiroshi	4. 巻 477
2. 論文標題 Identification of an L-serine/L-threonine dehydratase with glutamate racemase activity in mammals	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical Journal	6. 最初と最後の頁 4221 ~ 4241
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/BCJ20200721	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyamoto Tetsuya, Katane Masumi, Saitoh Yasuaki, Sekine Masae, Homma Hiroshi	4. 巻 52
2. 論文標題 Involvement of penicillin-binding proteins in the metabolism of a bacterial peptidoglycan containing a non-canonical D-amino acid	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Amino Acids	6. 最初と最後の頁 487 ~ 497
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00726-020-02830-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saitoh Yasuaki, Katane Masumi, Miyamoto Tetsuya, Sekine Masae, Sakai-Kato Kumiko, Homma Hiroshi	4. 巻 40
2. 論文標題 D-Serine and D-Alanine Regulate Adaptive Foraging Behavior in Caenorhabditis elegans via the NMDA Receptor	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 7531 ~ 7544
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.2358-19.2020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計39件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Tommaso Nuzzo, Daniela Punzo, Mattia Miroballo, Masumi Katane, Masae Sekine, Yasuaki Saitoh, Arianna De Rosa, Anna Di Maio, Martina Garofalo, Francesco Errico, Alessandro Gozzi, Jean Pierre Mothet, Hiroshi Homma, Alessandro Usiello
2. 発表標題 Exploring D-aspartate and D-serine cerebral metabolism in four mouse models of autism spectrum disorder
3. 学会等名 IDAR 2019 (The 4th International Conference of D-Amino Acid Research) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 Masae Sekine, Yo Seijo, Mio Funakoshi, Masumi Katane, Tetsuya Miyamoto, Yasuaki Saitoh, Kumiko Sakai-Kato, Hiroshi Homma
2 . 発表標題 Chracterization of putative D-amino acid aminotransferase in Arabidopsis thaliana
3 . 学会等名 IDAR 2019 (The 4th International Conference of D-Amino Acid Research) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Masumi Katane, Hisashi Kuwabara, Kazuki Nakayama, Yasuaki Saitoh, Tetsuya Miyamoto, Masae Sekine, Hiroshi Homma
2 . 発表標題 Biochemical characterization of a D-aspartate oxidase from Caenorhabditis elegans: its potential use in the determination of free D-glutamate in biological samples
3 . 学会等名 IDAR 2019 (The 4th International Conference of D-Amino Acid Research) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Tetsuya Miyamoto, Masumi Katane, Hiroshi Homma
2 . 発表標題 D-Amino acid metabolism by multifunctional enzymes in bacteria
3 . 学会等名 IDAR 2019 (The 4th International Conference of D-Amino Acid Research) (招待講演) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Arianna De Rosa, Tommaso Nuzzo, Francesca Mastrostefano, Anna Di Maio, Yasuaki Saitoh, Francesco Napolitano, Masumi Katane, Andrea Isidori, Viviana Caputo, Maria Egle De Stefano, Hiroshi Homma, Alessandro Usiello, Francesco Errico
2 . 発表標題 Anticipated expression of D-aspartate oxidase since embryonic stage drastically reduces D-aspartate levels in the mouse brain and influences spatial memory at adulthood
3 . 学会等名 IDAR 2019 (The 4th International Conference of D-Amino Acid Research) (招待講演) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1. 発表者名 Yasuaki Saitoh, Masumi Katane, Tetsuya Miyamoto, Masae Sekine, Kumiko Sakai-Kato, Hiroshi Homma
2. 発表標題 Secreted D-aspartate oxidase functions in <i>C. elegans</i> reproduction
3. 学会等名 IDAR 2019 (The 4th International Conference of D-Amino Acid Research) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 関根 正恵、大西 穂ノ佳、小山内 美音、尾関 祐二、藤井 久彌子、齋藤 康昭、宮本 哲也、片根 真澄、秋山 一文、下田 和孝、加藤 くみ子、本間 浩
2. 発表標題 統合失調症患者における D, L-アミノ酸
3. 学会等名 第 63 回 日本薬学会 関東支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 関根 正恵、船越 美緒、楊 晴如、片根 真澄、齋藤 康昭、加藤 くみ子、本間 浩
2. 発表標題 シロイヌナズナにおける推定 D-アミノ酸アミノトランスフェラーゼの解析
3. 学会等名 第 92 回 日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮本 哲也、松浦 美帆、吉田 真梨愛、齋藤 康昭、関根 正恵、片根 真澄、加藤 くみ子、本間 浩
2. 発表標題 超好熱菌 <i>Thermotoga maritima</i> における多機能型酵素による D-アミノ酸生合成
3. 学会等名 第 92 回 日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮本 哲也、齋藤 康昭、関根 正恵、片根 真澄、加藤 くみ子、本間 浩
2. 発表標題 超好熱菌 <i>Thermotoga maritima</i> における多機能型酵素における D-アミノ酸代謝
3. 学会等名 第 43 回 白金シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋藤 康昭、宮本 哲也、関根 正恵、片根 真澄、加藤 くみ子、本間 浩
2. 発表標題 線虫の生殖における分泌型 D-アスパラギン酸オキシダーゼの役割
3. 学会等名 第 43 回 白金シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 関根 正恵、片根 真澄、齋藤 康昭、宮本 哲也、加藤 くみ子、本間 浩
2. 発表標題 ヒト血漿中 D, L-アミノ酸の解析
3. 学会等名 第 43 回 白金シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 片根 真澄、有吉 真、立石 周平、小岩井 祥、高久 薫子、長井 賢一郎、中山 香月、関根 正恵、齋藤 康昭、関根 正恵、三田 真史、浜瀬 健司、的場 聖明、加藤 くみ子、本間 浩
2. 発表標題 D-グルタミン酸シクラーゼ：D-グルタミン酸分解酵素の酵素学的性質の解析
3. 学会等名 日本薬学会 第 140 年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 関根 正恵、大西 穂ノ佳、小山内 美音、尾関 祐二、藤井 久彌子、片根 真澄、齋藤 康昭、宮本 哲也、秋山 一文、下田 和孝、加藤 くみ子、本間 浩
2. 発表標題 統合失調症患者血漿中 D, L-アミノ酸濃度の解析
3. 学会等名 日本薬学会 第 140 年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮本 哲也、齋藤 康昭、関根 正恵、片根 真澄、加藤 くみ子、本間 浩
2. 発表標題 超好熱菌 <i>Thermotoga maritima</i> におけるセリンラセマーゼホモログの機能解析
3. 学会等名 日本薬学会 第 140 年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤 康昭、宮本 哲也、関根 正恵、片根 真澄、加藤 くみ子、本間 浩
2. 発表標題 線虫の適応的な採餌行動を調節する D-セリンと NMDA 受容体
3. 学会等名 日本薬学会 第 140 年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大森 由紀、上窪 裕二、関根 正恵、松川 岳久、小林 桃子、武藤 剛、横山 和仁、角田 正史、片根 真澄、齋藤 康昭、宮本 哲也、加藤 くみ子、本間 浩、堀口 岳剛
2. 発表標題 低濃度鉛曝露によるラット海馬中 D, L-セリンへの影響
3. 学会等名 第 90 回 日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤 康昭、片根 真澄、宮本 哲也、関根 正恵、本間 浩
2. 発表標題 線虫の採餌行動における D-アミノ酸オキシダーゼの役割
3. 学会等名 第 14 回 D-アミノ酸学会 学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮本 哲也、丸山 玲奈、齋藤 康昭、関根 正恵、片根 真澄、本間 浩
2. 発表標題 超好熱菌 <i>Thermotoga maritima</i> における新規 Lys ラセマーゼの同定および機能解析
3. 学会等名 第 14 回 D-アミノ酸学会 学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 関根 正恵、今北 千洋、森谷 優菜、氏橋 洋子、遠藤 優、片根 真澄、齋藤 康昭、宮本 哲也、本間 浩
2. 発表標題 シロイヌナズナにおける推定 D-アミノ酸代謝酵素の機能解析
3. 学会等名 第 14 回 D-アミノ酸学会 学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 片根 真澄、有吉 真、立石 周平、小岩井 祥、高久 薫子、長井 賢一郎、中山 香月、齋藤 康昭、宮本 哲也、関根 正恵、三田 真史、浜瀬 健司、的場 聖明、本間 浩
2. 発表標題 哺乳類 D-グルタミン酸シクラーゼの酵素学的性質の解析
3. 学会等名 第 14 回 D-アミノ酸学会 学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 関根 正恵、今北 千洋、森谷 優菜、氏橋 洋子、遠藤 優、片根 真澄、齋藤 康昭、宮本 哲也、本間 浩
2. 発表標題 シロイヌナズナにおける推定 D-アミノ酸アミノトランスフェラーゼの機能解析
3. 学会等名 第 91 回 日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮本 哲也、丸山 玲奈、齋藤 康昭、関根 正恵、片根 真澄、本間 浩
2. 発表標題 超好熱菌 <i>Thermotoga maritima</i> における D-リジン合成経路の解明
3. 学会等名 第 91 回 日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北本 颯希、宮本 哲也、高崎 理子、齋藤 康昭、関根 正恵、片根 真澄、本間 浩
2. 発表標題 細菌の非標準 D-アミノ酸含有ペプチドグリカン代謝における PBP _s の関与
3. 学会等名 第 91 回 日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮本 哲也、齋藤 康昭、関根 正恵、片根 真澄、本間 浩
2. 発表標題 細菌における多様な D-アミノ酸の生合成経路の解明
3. 学会等名 東京薬科大学 生命科学部 25 周年記念シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮本 哲也、北本 颯希、高崎 理子、齋藤 康昭、関根 正恵、片根 真澄、本間 浩
2. 発表標題 細菌 PBP _s の非標準的 D-アミノ酸含有ペプチドグリカン代謝への関与
3. 学会等名 第 41 回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 齋藤 康昭、片根 真澄、宮本 哲也、関根 正恵、本間 浩
2. 発表標題 線虫 <i>C. elegans</i> の採餌行動における D-アミノ酸の役割
3. 学会等名 第 41 回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 片根 真澄、宮本 哲也、齋藤 康昭、関根 正恵、本間 浩
2. 発表標題 心疾患に関連する新奇生理活性物質 D-グルタミン酸の分解酵素に関する研究
3. 学会等名 第 41 回 白金シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 関根 正恵、齋藤 康昭、宮本 哲也、片根 真澄、本間 浩
2. 発表標題 シロイヌナズナ植物体における D-アミノ酸アミノトランスフェラーゼ発現部位の解析
3. 学会等名 第 41 回 白金シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 齋藤 康昭、宮本 哲也、関根 正恵、片根 真澄、本間 浩
2. 発表標題 線虫の餌探索行動を調節する D-アミノ酸
3. 学会等名 第 41 回 白金シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮本 哲也、齋藤 康昭、関根 正恵、片根 真澄、本間 浩
2. 発表標題 超好熱菌 <i>Thermotoga maritima</i> における D-リジン生合成経路
3. 学会等名 第 41 回 白金シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 齋藤 康昭、片根 真澄、宮本 哲也、関根 正恵、本間 浩
2. 発表標題 線虫の採餌行動におけるセリンラセマーゼの役割
3. 学会等名 日本薬学会 第 139 年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮本 哲也、北本 颯希、高崎 理子、片根 真澄、齋藤 康昭、関根 正恵、本間 浩
2. 発表標題 細菌 BPs の非標準的 D-アミノ酸含有ペプチドグリカン代謝能の解析
3. 学会等名 日本薬学会 第 139 年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 関根 正恵、今北 千洋、森谷 優菜、氏橋 洋子、遠藤 優、片根 真澄、齋藤 康昭、宮本 哲也、本間 浩
2. 発表標題 シロイヌナズナにおける推定 D-アミノ酸アミノトランスフェラーゼの酵素学的性質の解析
3. 学会等名 日本薬学会 第 139 年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮本 哲也、松浦 美帆、吉田 真梨愛、齋藤 康昭、関根 正恵、片根 真澄、本間 浩
2. 発表標題 超好熱菌由来シスタチオンin {beta}-リアーゼの D-アミノ酸代謝能の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会 2019 年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮本 哲也、齋藤 康昭、関根 正恵、片根 真澄、本間 浩、加藤 くみ子
2. 発表標題 超好熱菌由来セリンラセマーゼホモログの D-アミノ酸代謝能の検証
3. 学会等名 第 93 回 日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 関根 正恵、上田 梨那、荻原 冴、田中 優佳里、尾関 裕二、藤井 久彌子、齋藤 康昭、宮本 哲也、片根 真澄、秋山 一文、下田 和孝、本間 浩、加藤 くみ子
2. 発表標題 統合失調症患者血漿中 D, L-アミノ酸濃度の解析
3. 学会等名 第 64 回 日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 片根 真澄
2. 発表標題 A colorimetric assay method for measuring the activity of D-glutamate cyclase that is a degradative enzyme of free D-glutamate in mammals
3. 学会等名 MBSJ2020 Online (第 43 回 日本分子生物学会年会) (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 関根 正恵、上田 梨那、荻原 冴、田中 優佳里、尾関 裕二、藤井 久彌子、齋藤 康昭、宮本 哲也、片根 真澄、秋山 一文、下田 和孝、本間 浩、加藤 くみ子
2. 発表標題 統合失調症患者血漿中 D, L-プロリン濃度の解析
3. 学会等名 日本薬学会 第 141 年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------