

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05303

研究課題名(和文) スフィンゴ脂質病の新規治療法を指向した光キャプチャーによるSMS2阻害様式の解明

研究課題名(英文) Binding analysis of sphingomyelin synthase 2 with its inhibitor by photoaffinity labeling

研究代表者

村井 勇太 (Murai, Yuta)

北海道大学・農学研究院・准教授

研究者番号：20707038

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：未だ共結晶構造が解かれていないスフィンゴミエリン合成酵素2(SMS2)とリガンド間の結合様式を光アフィニティーラベル法(PAL)によって解明することとした。独自開発したSMS2阻害剤の骨格をベースに2種類の光アフィニティープローブを合成し、そのうちの 하나가SMS2の分子量である43kDaに特異的なタンパク質を釣り上げていることをSDS-PAGEで確認した。このバンドをゲル内酵素消化を行い、質量分析を行った結果、目的のSMS2を釣り上げていることに成功した。今後はSMS2の発現量を増やすことで、結合部位解明が期待できる段階まで進めることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在までにX線結晶構造解析法やクライオ電子顕微鏡法によるSMS2単独およびリガンド間の結晶構造が解かれた例はない。本研究成果は光アフィニティーラベル法による結合部位解明まであと一步のところまで迫ることができ、今後はタンパク質科学の専門家と共同で本研究を進めることでSMS2-阻害剤間の結合部位解明が期待できる。結合部位の解明がなされればin silico研究による生体分子に適切なSMS2阻害リード骨格を素早く提案可能になるとされ、肥満やガン、認知症などのアンメットメディカルニーズ対象疾病に対する新規改善アプローチを開拓できると期待される。

研究成果の概要(英文)：Inhibition of sphingomyelin synthase 2 (SMS2) activity has physiological effects such as anti-obesity and anti-malignant lymph tumor immunity. Therefore the development of high potent inhibitory compounds for SMS2 has attracted attention all over the world. However, SMS2 is a membrane protein that has never been successfully purified, and the lack of homologous or similar proteins makes structure-based drug discovery using bioinformatics difficult. In this study, to elucidate the binding mode of SMS2 with its inhibitor by photoaffinity labeling. Two types of photoaffinity-labeled probes were prepared, and both were confirmed to have selective inhibitory activity against SMS2. Also, one of them was confirmed to bind specifically to SMS2. This result will contribute that it is able to advance to the stage where we can expect to elucidate the binding site by increasing the amount of SMS2 in the future.

研究分野：ケミカルバイオロジー

キーワード：スフィンゴミエリン合成酵素2 光アフィニティーラベル スフィンゴ脂質 阻害剤 肥満 癌

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

スフィンゴミエリン合成酵素 2(SMS2)は細胞膜に局在しマイクロドメイン中の SM 量の調節に関与するとされる。近年、この SMS2 欠損マウスにおいて抗肥満効果<sup>1)</sup>や抗悪性リンパ腫瘍免疫亢進<sup>2)</sup>、SMS2 ノックダウン神経細胞においてはアミロイドβの除去作用を持つエクソソーム放出促進<sup>3)</sup>が報告され、SMS2 の阻害が創薬のターゲットとして注目されている。しかし、SMS2 は精製に成功例のない膜タンパク質であり、また相同性や類似性をもつタンパク質が存在しないことからバイオインフォマティクスによる構造基盤創薬が困難という大きな問題を抱えている。また我々の研究グループは、現在までに基質であるセラミド骨格をベースとした SMS2 選択的な阻害剤 (50%阻害濃度: 20 nM)を開発してきたが、脂質骨格を基盤としているため“難水溶性の問題”がいまだ生体への応用に大きな壁として存在している。

### 2. 研究の目的

生体への応用可能な SMS2 阻害リード開発は阻害剤-SMS2 間の結合様式を明らかにすることでそのヒントが得られると期待した。そのため、独自開発した SMS2 選択的阻害剤-SMS2 間の結合様式 (結合部位の特定からコンピューターシミュレーションによる結合モデル構造の予測)を光アフィニティーラベル法 (PAL)によって明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1)独自の SMS2 選択的阻害剤を搭載したノシルジアジリン型 PAL プロープの合成

独自 SMS2 阻害剤はセラミド (スフィンゴシン) 骨格を基盤としている。スフィンゴシンの末端部分は蛍光基修飾を行なってもその生理活性が保持され、蛍光スフィンゴシンとしても市販されていることからスフィンゴシン末端にノシルジアジリン基を導入した PAL プロープの合成を実施した。合成 PAL プロープについて、SMS2 選択的阻害活性が確認できない場合の補完法としてジアジリン基とクリック反応による検出基導入のためのアルキンを直接スフィンゴシン骨格に導入した第二の PAL プロープ合成を補完法として準備しておくこととした。

#### (2)合成した PAL プロープによる SMS2 間の結合様式の解明研究

十分な SMS2 選択的阻害活性が認められた合成 PAL プロープと SMS2 懸濁液を相互作用させ光ラベル化を実施する。この際、競合剤競合実験も行い、SMS2 への特異的結合が行われていることについても確認を行う。ラベル化後は蛍光標識やビオチン標識を行い、SDS-PAGE、ウェスタンブロッティングによる SMS2 の検出基導入の確認を行なったのち、ゲル内消化を行い質量分析による阻害剤-SMS2 間の結合部位解明を検討することとした。

### 4. 研究成果

#### (1)2種の PAL プロープ合成

ドデカンジオール(1)を HBr と反応させ、モノブロモ体(2)を 49%、続く IBX 酸化によるアルデヒド(3)を 89%で得た。いっぽう、L-セリンより既存法<sup>4)</sup>に従って、化合物(4)を誘導後、Horner-Wadsworth-Emmons によりケトスフィンゴシン骨格(5)を 73%で合成し、ケトン基を Zn(BH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> で還元することで(2*S*, 3*R*)体のスフィンゴシン骨格(6)を得た。続いて、3位の水酸基をメチルエーテル(7)へと変換した後に、独自開発したノシル型ジアジリン<sup>5)</sup>(8)を導入した化合物(9)を 63%で構築した。アセトナイド、Boc 基はメタノール中、TFA で脱保護を行い、最後に SMS2 選択的阻害のキーとなる化合物 11 をアシル化することで PAL プロープ (12)をトータル収率 5%程度で構築することに成功した (図 1)。

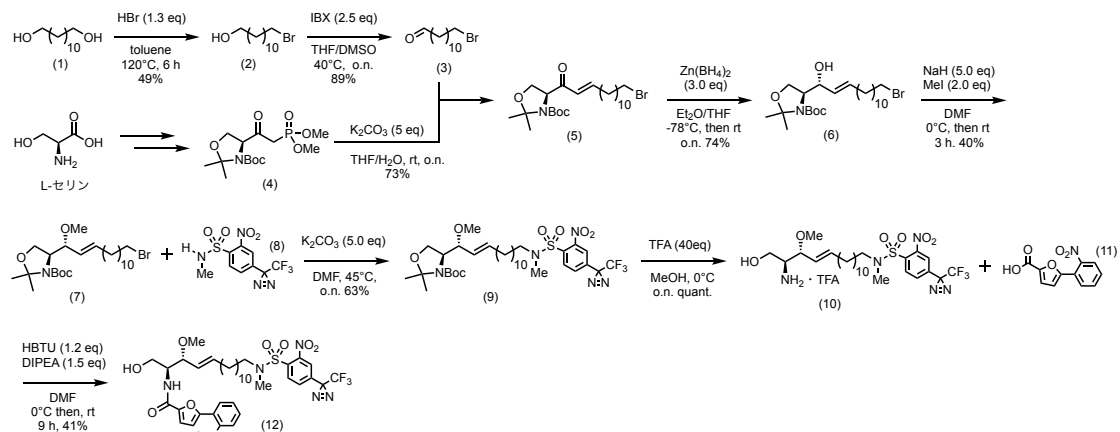


図 1. PAL プロープ 12 の合成スキーム

また PAL プローブ(12)の SMS2 阻害活性が確認できない場合に備えて、ジアジリン基とクリック反応による検出基導入のためのアルキンを直接スフィンゴシン骨格に導入した第二の PAL プローブ合成 (27) についても検討を行なった。5-ブromo-1-ペンチン誘導体(13)を Grignard 試薬(14)へ変換の後、アルデヒド(15)と縮合させアルコール化合物(16)を61%で調製した。次に IBX によるアルコールの酸化を行うことでケトン化合物(17)、続いて TBAF によるシリル基の脱保護を行うことで化合物(18)を得た。さらにヒドロキシルアミン-O-スルホン酸と反応させることでジアジリン化合物(19)を経て、活性二酸化マンガンによってジアジリン化合物(20)を2ステップ36%で調製することに成功した。調製した化合物(20)の一級アルコールは、再び IBX で酸化を行いアルデヒド(21)へ変換の後、化合物(22)と Horner-Wadsworth-Emmons 反応によりケトスフィンゴシン骨格(23)を88%で合成した。のちの反応経路はノシル型 PAL プローブ(12)と同様の方法を用いて第二の PAL プローブ(28)を合成することに成功した(図2)。

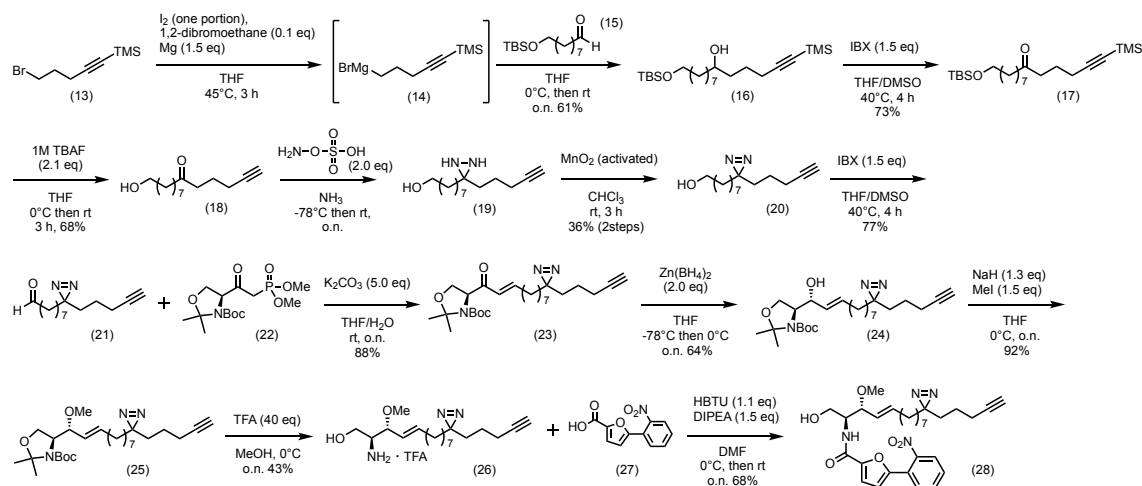


図2. PAL プローブ 28 の合成スキーム

## (2) 合成した2種のPALプローブのSMS2阻害活性評価試験

合成した2種のPALプローブのSMS2選択的阻害活性については、座間、五十嵐らのSMS阻害剤スクリーニングアッセイ系<sup>6)</sup>を用いて評価を行なった。独自のSMS2阻害剤(29)の50%阻害濃度を指標(SMS1:3 uM, SMS2:20 nM)とした際にPALプローブ(12)ではSMS1:15 uM, SMS2:150 nM, PALプローブ(28)ではSMS1:15 uM, SMS2:20 nMとなり十分なSMS2選択的阻害活性を保持していることが確認された(図3)。したがって、これらを用いたPAL実験に使用することとした。

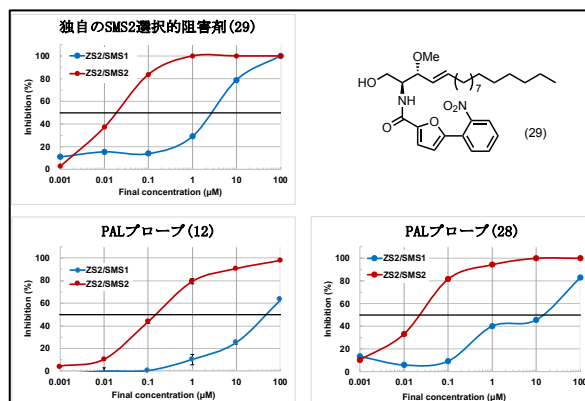


図3. 合成したPALプローブのSMS2阻害活性

## (3) 合成した2種のPALプローブの光反応性評価

次にPALプローブの最適光反応条件を検討した。メタノールで0.5 mMに調製したサンプルを石英セルに入れ、0℃下で経時的にバンドパスフィルターを介した(250W 365nm および 310-385nm)波長照射によりジアジリン基の分解を測定した。PALプローブ(12)、(28)ともに310-385nmの照射において30秒以内に50%以上のジアジリン基がカルベンを発生させメタノールと反応することで化合物(30)、(31)を生成することが質量分析で確認された(図4)。この結果より、実際のPAL実験では310-385の波長を用いて実施することとした。

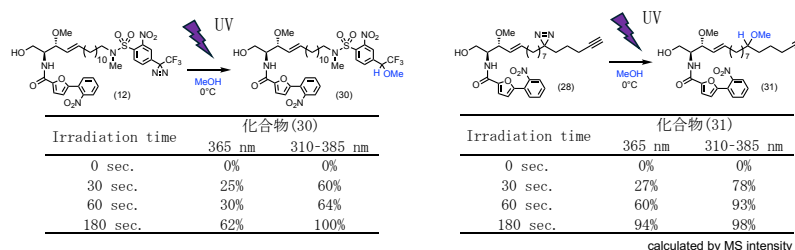


図4. PALプローブの光反応性試験

#### (4) PAL プローブ(12)を用いた SMS2 の釣り上げ実験

PAL による阻害剤-SMS2 間の結合様式解明試験には pCMV-SMS2-3xFLAG プラスミドからなるマウス SMS2 を HEK293 細胞で過剰発現させ、総タンパク質量 1mg/mL の細胞懸濁溶液を準備した。PAL 実験では細胞懸濁液 200 $\mu$ L に 50 $\mu$ M の PAL プローブ(12)を調製し、37 $^{\circ}$ C で 1 時間インキュベーションを行った後、氷上にて 310–385 nm の光照射を 60 秒行なった。10kDa のアミコンで 2 回洗浄した後、50 $\mu$ M の BODIPY-PEG チオール、及び 100 $\mu$ M の TCEP を加え pH 9.2 borate buffer (400  $\mu$ l) 中で 37 $^{\circ}$ C、攪拌しながら 1 時間 SNAr を行なった。反応後は 10kDa アミコンで 2 回洗浄した後、サンプルバッファーを加え SDS-PAGE のサンプルを調製した。SDS-PAGE 後、anti-FLAG 抗体による化学発光検出および蛍光検出による SMS2 釣り上げの評価を行なった。SMS2 の分子量である 43kDa 付近に化学発光バンドを確認したが、蛍光検出においては PAL プローブ(12)の明確なバンドを確認することができなかった。また PAL プローブ(12)の濃度やタンパク量、BODIPY-PEG チオール量の検討を行なったが変化を確認することができなかった (図 5)。考えられる原因として光ラベル後の S<sub>N</sub>Ar が効率よく進行していないことがあげられ、水中における効率的な S<sub>N</sub>Ar 反応をさらに検討する必要があると考えられる。現在、水中での効率的な S<sub>N</sub>Ar の構築を目指し、低温マイクロウェーブアシストや超音波アシストなどによる反応条件をおこなっており、現状よりも収率の高い結果が得られているため、これらの方法を活用し再度検討を行う予定である。

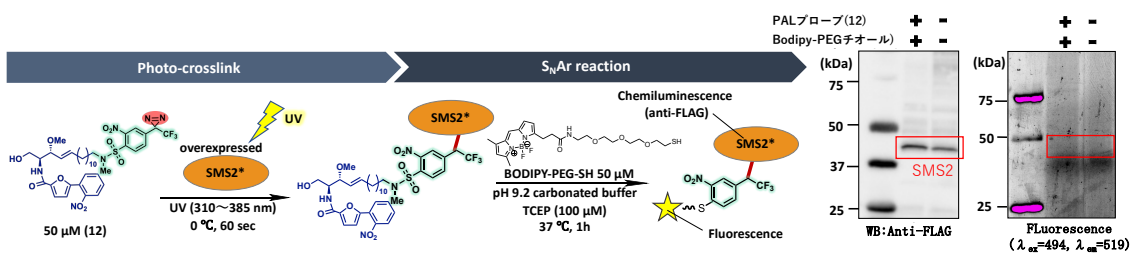


図 5. PAL プローブ(12)を利用した SMS2 との光ラベル実験の結果

#### (5) PAL プローブ(28)を用いた SMS2 の釣り上げ実験

PAL プローブ(12)と同様にサンプルを調製後、37 $^{\circ}$ C で 1 時間インキュベーションを行った後、氷上にて 310–385 nm の光照射を 60 秒行なった。その後、1.25mM CuSO<sub>4</sub>、125 $\mu$ M TBTA、1.25mM Sodium ascorbate および 80 $\mu$ M 6-FAM-PEG<sub>3</sub>-azide になるようにサンプルを調製し 37 $^{\circ}$ C、1 時間クリック反応を行った。さらにサンプルをそのままサンプルバッファーを加え SDS-PAGE のサンプルを調製した。まず、化学発光による WB 結果から 43 kDa の SMS2 バンドが得られていることを確認した。いっぽう、蛍光検出の結果について、PAL プローブ(28)を入れてないサンプルでは蛍光バンドは確認されず 6-FAM-PEG<sub>3</sub>-azide によるタンパク質等への非特異的な吸着は起こっていないことが確認された。続いて、PAL プローブ(28)をいれたレーンとさらに競合剤(29)を入れたレーンを比較してみると、競合剤が入っていないレーンは 43 kDa 付近に蛍光バンドが確認でき、競合剤を 10 倍量加えたレーンでは 43kDa 付近のバンドが薄くなっていることを確認した。実際に ImageJ を用いて蛍光強度を定性比較したところ、競合剤なしを 1.0 とした際、競合剤有りの強度は 0.4 であったことから PAL プローブ(28)の SMS2 への光ラベル化が抑制され、SMS2 と特異的に結合していることが示唆された (図 6)。

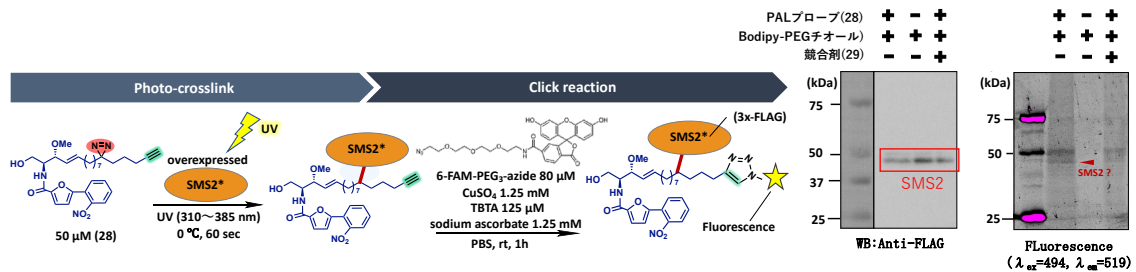


図 6. PAL プローブ(28)を利用した SMS2 との光ラベル実験の結果  
(検出基として蛍光基を導入)

さらに蛍光標識だけでなく、Biotin-PEG-azide を用いてクリック反応を行い、アビジンによる光ラベルタンパク質精製後に FLAG 抗体を介した化学発光による検出を行なった結果、こちらも 43kDa 付近に特異的なバンドを検出することができた (図 7)。

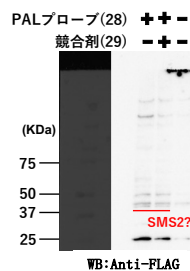


図 7. PAL プローブ(28)を利用した SMS2 との結合様式解明を志向した光ラベル実験の結果 (検出基として Biotin を導入)

#### (6) PAL プローブ(28)で釣り上げた SMS2 の結合部位解析実験

PAL プローブ(28)で釣り上げタンパクを Biotin で検出した 43kDa 付近のバンドを切り取りアセトニトリルで懸濁後、乾燥させた。次に 400uL の DTT 溶液(10mM DTT, 50mM Ammo. Bicarbon.)を加えて 45 分間、56°C で反応させることで S-S 結合を切断し、DTT 溶液を除去後、400uL のアルキル化溶液(55mM ヨードアミド, 50mM Ammo. Bicarbon.)を加え 30 分間、室温で遮光しながら反応することでアルキルキャップを行なった。サンプルを洗浄バッファー(50mM Ammo. Bicarbon.)で 10 分間攪拌し、乾燥後、トリプシンによる酵素消化反応を行い質量分析によるペプチド解析を行なった。その結果、ペプチド断片 VSSQTNFLSR 部分が検出され、SMS2 が PAL プローブ(28)によって釣り上がっていることが確認できた(図 8)。今回、期間中に SMS2-PAL プローブ間の結合部位特定までには至っていないが、今後は昆虫細胞を用いたより多くの SMS2 過剰発現を行い SMS2 と PAL プローブの結合部位特定研究の継続を予定している。

pCMV-mSMS2-3XFLAG (763.2004)

MDIETAKLEGHLESQTNDSTNTYTSPTAEVEEKGK  
GKGPKTLSNGLRKGAKKYPDIQISMPNDSKNKFLP  
EWWKGTGIAFVYALFNILITVMTVVHERVPPKELSP  
PLPDKFFDYFDRVKWAFSVSEINGMVLVGLWITQWL  
FLRYKSIVGRRFFFMGTLYLYRCITMYVTTLPVPGM  
HFQCAPKLNQDSQAKIQRLRLISGGGLSITGSHILCG  
DFLFSGHTVVLTLTYLFIKEYSPRHFWWYHLVCWLLS  
AAGIICILVAHEHYTVDVIIHAYITTRLFWYHSMANE  
KNLK**VSSQTNFLSR**AWWFPIFYFFEKNVQGSIPCCFS  
WPLSWPPGCFKSSCRKYSRVQKIGEDNEKSTKGGRA  
DPAFLYKVVDKLIDTVLEDYKDDDDDKDYKDDDDK  
DYKDDDDK\*

Photo-labeled SMS2-3 x FLAG

Confidence Level	Sequence	Modifications
High	VSSQTNFLSR	pCMV-mSMS2-3XFLAG

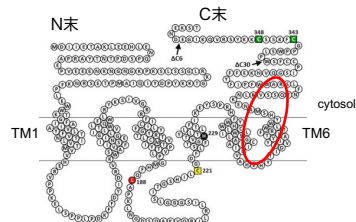


図 8. PAL プローブ(28)を利用した釣り上がった SMS2 の質量分析結果

#### 参考文献

- 1) Mitsutake, S. *et al.*, *J. Biol. Chem.* (2011), 286, 28544-28555.
- 2) Taniguchi, Y. *et al.*, *FASEB J.* (2020), 34, 3838-3854.
- 3) Yuyama, K. *et al.*, *J. Biol. Chem.* (2014), 289, 24488-24498.
- 4) Murai, Y. *et al.*, *Chirality* (2022), 34, 807-812.
- 5) Saaidin, S. A. *et al.*, *Eur. J. Org. Chem.* (2019), 7563-7567.
- 6) Zama, K. *et al.*, *Chem. Phys. Lipids* (2012), 165, 760-768.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Koolath Sajeer, Murai Yuta, Suzuki Tomoya, Swamy Mahadeva M. M., Usuki Seigo, Monde Kenji	4. 巻 14
2. 論文標題 Stereochemistry of Sphingolipids in Ganglioside GM3 Enhances Recovery of Nervous Functionality	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACS Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 1237 ~ 1241
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsmchemlett.3c00252	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 Abdelrasoul Mariam, Yuyama Kohei, Swamy Mahadeva M. M., Murai Yuta, Monde Kenji	4. 巻 35
2. 論文標題 Stereochemistry activity relationship of ceramide induced exosome production to clear amyloid in Alzheimer's disease	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chirality	6. 最初と最後の頁 577 ~ 585
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chir.23568	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 Ikushiro Hiroko, Murakami Taiki, Takahashi Aya, Katayama Asuka, Sawai Taiki, Goto Haruna, Koolath Sajeer, Murai Yuta, Monde Kenji, Miyahara Ikuko, Kamiya Nobuo, Yano Takato	4. 巻 299
2. 論文標題 Structural insights into the substrate recognition of serine palmitoyltransferase from <i>Sphingobacterium multivorum</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 104684 ~ 104684
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2023.104684	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 Zhang Wen, Sunami Kazu, Liu Shuo, Zhuang Zihan, Sakihama Yasuko, Zhou Da-Yang, Suzuki Takeyuki, Murai Yuta, Hashimoto Makoto, Hashidoko Yasuyuki	4. 巻 87
2. 論文標題 Accumulation of squalene in filamentous fungi <i>Trichoderma virens</i> PS1-7 in the presence of butenafine hydrochloride, squalene epoxidase inhibitor: biosynthesis of <sup>13</sup> C-enriched squalene	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1129 ~ 1138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbad102	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 Ikushiro Hiroko, Honda Takumi, Murai Yuta, Murakami Taiki, Takahashi Aya, Sawai Taiki, Goto Haruna, Ikushiro Shin-ichi, Miyahara Ikuko, Hirabayashi Yoshio, Kamiya Nobuo, Monde Kenji, Yano Takato	4. 巻 300
2. 論文標題 Racemization of the substrate and product by serine palmitoyltransferase from <i>Sphingobacterium multivorum</i> yields two enantiomers of the product from d-serine	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 105728 ~ 105728
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2024.105728	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 Swamy Mahadeva M. M., Murai Yuta, Monde Kenji, Tsuboi Setsuko, Swamy Aravind K., Jin Takashi	4. 巻 16
2. 論文標題 Biocompatible and Water-Soluble Shortwave-Infrared (SWIR)-Emitting Cyanine-Based Fluorescent Probes for In Vivo Multiplexed Molecular Imaging	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 ACS Applied Materials & Interfaces	6. 最初と最後の頁 17253 ~ 17266
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsami.4c01000	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 Murai Yuta, Honda Takumi, Yuyama Kohei, Mikami Daisuke, Eguchi Koichi, Ukawa Yuichi, Usuki Seigo, Igarashi Yasuyuki, Monde Kenji	4. 巻 23
2. 論文標題 Evaluation of Plant Ceramide Species-Induced Exosome Release from Neuronal Cells and Exosome Loading Using Deuterium Chemistry	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 10751 ~ 10751
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms231810751	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Swamy Mahadeva M. M., Zubir Mohamad Zarif Mohd, Mutmainah, Tsuboi Setsuko, Murai Yuta, Monde Kenji, Hirano Ken-ichi, Jin Takashi	4. 巻 147
2. 論文標題 A near-infrared fluorescent long-chain fatty acid toward optical imaging of cardiac metabolism in living mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Analyst	6. 最初と最後の頁 4206 ~ 4212
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D2AN00999D	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 Swamy Mahadeva M. M., Tsuboi Setsuko, Murai Yuta, Monde Kenji, Jin Takashi	4. 巻 12
2. 論文標題 Shortwave-infrared (SWIR) emitting annexin V for high-contrast fluorescence molecular imaging of tumor apoptosis in living mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 19632 ~ 19639
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d2ra03315a	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 Murai Yuta, Hashimoto Makoto	4. 巻 28
2. 論文標題 Heteroaromatic Diazirines Are Essential Building Blocks for Material and Medicinal Chemistry	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 1408 ~ 1408
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules28031408	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Murai Yuta, Hashimoto Makoto, Yoshida Takuma, Puteri Tachrim Zetryana	4. 巻 104
2. 論文標題 Design and Synthesis of 1,3-Bis(3-(trifluoromethyl)diazirin-3-yl)phenylalanine for Efficient Photo Cross-Linking	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 HETEROCYCLES	6. 最初と最後の頁 167 ~ 167
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3987/com-21-14563	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 Murai Yuta, Sekiguchi Akihiro, Hirakawa Taeko, Usuki Seigo, Igarashi Yasuyuki, Monde Kenji	4. 巻 -
2. 論文標題 Evaluation of chiral N,N dimethyl sphingosine for the interaction between nerve growth factor and tropomyosin receptor kinase A	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chirality	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) 10.1002/chir.23433	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 Murai Yuta, Yuyama Kohei, Mikami Daisuke, Igarashi Yasuyuki, Monde Kenji	4. 巻 245
2. 論文標題 Penta-deuterium-labeled 4E, 8Z-sphingadienine for rapid analysis in sphingolipidomics study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemistry and Physics of Lipids	6. 最初と最後の頁 105202 ~ 105202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemphyslip.2022.105202	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21件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 村井勇太、阿部美良乃、佐藤 長緒、眞木 美帆、門出 健次
2. 発表標題 スフィンゴミエリン合成酵素2の機能と阻害剤開発アプローチ
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会 第17回年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 村井勇太、本田拓巳、橋本 誠、門出健次
2. 発表標題 代謝産物3-ケトジヒドロスフィンゴシンの立体解析法開発と応用
3. 学会等名 2023年度 日本農芸化学会北海道支部 / 第53回 日本栄養・食糧学会 北海道支部 合同学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Wen Zhang, Kazu Sunami, Shuo Liu, Zihan Zhuang, Yasuko Sakihama, Yuta Murai, Makoto Hashimoto, Yasuyuki Hashidoko
2. 発表標題 Accumulation of squalene in filamentous fungi <i>Trichoderma virens</i> PS1-7 in the presence of butenafine hydrochloride, squalene epoxidase inhibitor. -Biosynthesis of <sup>13</sup> C-enriched squalene
3. 学会等名 023年度 日本農芸化学会北海道支部 / 第53回 日本栄養・食糧学会 北海道支部 合同学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大塚汐里、村井勇太、門出健次
2. 発表標題 精巢、精子中に特異的に存在する 多価不飽和極長鎖脂肪酸含有スフィンゴ脂質の合成
3. 学会等名 日本化学会北海道支部2023年夏季研究発表会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 村井 勇太、本田 拓巳、生城 浩子、矢野 貴人、門出 健次
2. 発表標題 3-ケトジヒドロスフィンゴシンの立体解析法開発と Sphingobacterium SPTによる代謝産物への応用
3. 学会等名 第16回セラミド研究会学術集会・第17回スフィンゴテラピィ研究会 合同年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大塚汐里、村井勇太、門出健次
2. 発表標題 男性生殖機能に重要とされる多価不飽和極長鎖脂肪酸含有スフィンゴ脂質群の合成
3. 学会等名 第16回セラミド研究会学術集会・第17回スフィンゴテラピィ研究会 合同年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大塚汐里、村井勇太、門出健次
2. 発表標題 精巢、精子に特異的に存在する極長鎖多価不飽和脂肪酸含有スフィンゴ脂質の合成
3. 学会等名 日本化学会第104春季年会(2024)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 村井 勇太、本田 拓巳、生城 浩子、矢野 貴人、門出 健次
2. 発表標題 SphingobacteriumSPT代謝産物 3-ケトジヒドロスフィンゴシンの立体解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2024年度大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 生城浩子、村上大毅、高橋亜弥、豎山あすか、澤井大樹、後藤春菜、サジール クーラス、本田拓巳、村井勇太、門出健次、宮原郁子、神谷信夫、矢野貴人
2. 発表標題 細菌由来セリンパルミトイル転移酵素の基質認識に関する構造学的考察
3. 学会等名 日本生化学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 阿部 美良乃、村井 勇太、佐藤 長緒、眞木 美帆、門出 健次
2. 発表標題 スフィンゴミエリン合成酵素 2 と阻害剤間の結合様式解明を指向した新規光キャプチャー創製の研究
3. 学会等名 第15回セラミド研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥川 真奈美、村井 勇太、湯山 耕平、門出 健次
2. 発表標題 植物型スフィンガジエニンによる皮膚バリア改善効果の機序解明研究
3. 学会等名 第15回セラミド研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大塚 汐里、村井 勇太、門出 健次
2. 発表標題 精巢、精子活性に関わる多価不飽和極長鎖脂肪酸含有スフィンゴ脂質の合成
3. 学会等名 第15回セラミド研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 阿部 美良乃、村井 勇太、佐藤 長緒、眞木 美帆、光武 進、谷口 真、門出 健次
2. 発表標題 光アフィニティーラベル用スフィンゴミエリン合成酵素2選択的阻害剤の創製と結合ドメイン解析の評価
3. 学会等名 日本化学会 第103春季年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 本田 拓巳、村井 勇太、生城 浩子、矢野 貴人、門出 健次
2. 発表標題 キラルHPLCによる生合成3-ケトジヒドロスフィンゴシンの立体解析法の開発と代謝産物解析
3. 学会等名 日本脂質生化学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 阿部 美良乃、村井 勇太、門出 健次
2. 発表標題 スフィンゴ脂質病の治療法を指向した新規光キャプチャー創製の研究
3. 学会等名 第15回日本ケミカルバイオロジー学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村井 勇太、ムトマイナー、クーラス サジール、白杵 靖剛、湯山 耕平、中岡 慎治、佐々木 道仁、大場 靖子、佐藤 彰彦、五十嵐 靖之、澤 洋文、門出 健次
2. 発表標題 食品由来の天然有機化合物によるコロナウイルス感染抑制効果
3. 学会等名 第63回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村井 勇太、ムトマイナー、クーラス サジール、白杵 靖剛、湯山 耕平、中岡 慎治、佐々木 道仁、大場 靖子、佐藤 彰彦、五十嵐 靖之、澤 洋文、門出 健次
2. 発表標題 食品成分およびその誘導體群によるコロナウイルス感染抑制効果
3. 学会等名 2021 日本生化学学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mutmainah, Yuta Murai, Sajeer Koolath, Seigo Usuki, Kohei Yuyama, Shinji Nakaoka, Michihito Sasaki, Yasuko Orba, Akihiko Sato, Yasuyuki Igarashi, Hirofumi Sawa, Kenji Monde
2. 発表標題 A novel SARS-CoV-2 inhibitor found in the spice of Myristica fragrans
3. 学会等名 第15回スフィンゴセラピー研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村井 勇太、本田 拓巳、湯山 耕平、五十嵐 靖之、門出 健次
2. 発表標題 植物セラミドによるエクソソーム放出増進と動的メカニズムの研究
3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 阿部 美良乃、村井 勇太、佐藤 長緒、眞木 美帆、門出 健次
2. 発表標題 スフィンゴ脂質病の治療法を指向した新規光キャプチャー創製の研究
3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Mutmainah, Yuta Murai, Sajeer Koolath, Seigo Usuki, Kohei Yuyama, Shinji Nakaoka, Michihito Sasaki, Yasuko Orba, Akihiko Sato, Yasuyuki Igarashi, Hirofumi Sawa, Kenji Monde
2. 発表標題 Malabaricone C as a novel SARS-CoV-2 inhibitor from spices
3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会
4. 発表年 2022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
---------	---------