

令和 2 年 7 月 6 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07763

研究課題名(和文) ウイルス侵入の鍵となる硫酸化の仕組みの解明と阻害剤探索

研究課題名(英文) Studies on mechanism of protein tyrosine sulfation in virus entry and its inhibitors

研究代表者

水光 正仁 (Suiko, Masahito)

宮崎大学・ 理事・副学長

研究者番号：00128357

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)： 翻訳後修飾としてのチロシン硫酸化は、チロシン硫酸転移酵素(TPST)によってタンパク質のチロシン残基に硫酸基を転移させる反応である。チロシン硫酸化の標的タンパク質と生理機能は未だ解明されていない部分も多い。本研究では、ゼブラフィッシュおよびヒト肝癌由来細胞株HepG2を用いて、TPSTのノックダウン細胞を作成し、生理機能解析および発現量変動タンパク質を同定した。その結果、ゼブラフィッシュでは、胚発生に重要な影響を与えていること、HepG2では、ペルオキシレドキシシンやHsp70などのストレス応答分子に発現変動を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2020年度世界的に大流行した新型コロナウイルスの細胞質内への侵入は、ヒト細胞膜上のアンジオテンシン変換酵素II(ACE2)受容体に結合することから始まる。エイズウイルスHIVや手足口病ウイルスは、細胞膜上のチロシン硫酸化されたタンパク質を受容体として、細胞質内に侵入する。ウイルスとタンパク質の結合を抑制することは、抗ウイルス薬となる。そこで、本研究では、タンパク質のチロシン硫酸化を触媒する酵素遺伝子をノックダウンすることにより、細胞内で起きるタンパク質の機能変化の解明を目的とした。

研究成果の概要(英文)： Post-translational protein modification by tyrosine sulfation has an important role in extracellular protein-protein interactions. The protein tyrosine sulfation reaction is catalysed by enzymes called the tyrosylprotein sulfotransferases (TPSTs). In humans, two TPST isoforms, termed TPST1 and TPST2, have been identified. Although the functional importance of protein tyrosine sulfation is not fully resolved, it has been implicated in altering biological activities of proteins.

We knocked down TPST isoform genes in zebrafish and HepG2 and analyzed the effects of TPST deficiency on morphological development and proteomic differences. TPST2 knockdown zebrafish resulted in a bent body trunk phenotype, and triple TPST knockdown led to lethal in zebrafish. TPSTs knockdown in HepG2 revealed the big differences in the proteins such as peroxiredoxin and heat shock protein (Hsp 70). These results suggest that TPSTs play an important role during zebrafish development and HepG2 stress response.

研究分野：応用生物化学

キーワード：硫酸転移酵素 翻訳後修飾 チロシン硫酸化 ウイルス侵入 膜タンパク質 HepG2 遺伝子ノックダウン ゼブラフィッシュ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

2003年にヒトゲノムの塩基配列が完全解読されたが、実際の遺伝子数は予想されていたものよりも極めて少ない結果となった。そのため、1つの遺伝子から複数のタンパク質を効率よく生産する機構として、翻訳後修飾が注目されている。翻訳後修飾は、遺伝情報からタンパク質へ翻訳されポリペプチド鎖が完成した後で起こる反応であり、ジスルフィド結合の形成、プロテアーゼによる切断、リン酸化、硫酸化、糖鎖の付加、アセチル化などの例がある。この翻訳後修飾が構造と機能に多様性を与えるため、少ない遺伝子数でも多様な機能のタンパク質を生み出すことができ、生命機能が維持されている。

タンパク質に含まれるチロシン残基に硫酸基がつけられる修飾(硫酸化修飾)(図1)の報告は、これまでに62種類のタンパク質のみであるが、ヒトにおける生体防御機構において、重要な役割をしている。例えば、抗体の異物認識、白血球の炎症部位への移動、

補体因子の活性化などである。その一方で、ヒト細胞表面に存在する受容体タンパク質(ケモカインレセプター)につけられたチロシン硫酸基は、エイズや手足口病などの原因ウイルスがヒト細胞へ感染する際の目印として使われる。また、単球のセレクチンの硫酸化が動脈硬化病変への集合に関与していることが報告されている。

これらの硫酸基をつける反応(硫酸化修飾)を行っているのが、タンパク質チロシン硫酸転移酵素(TPST)であり、硫酸基供給源は活性硫酸(3'-Phosphoadenosine 5'-phosphosulfate)(PAPS)である。(図1)このTPSTは、トランスゴルジネットワークに局在する膜結合型酵素で、これまでに、この酵素が働くメカニズムはほとんど知られていなかった。特に、この酵素が硫酸基をつけるタンパク質とつけないタンパク質をどのようにして選別しているのかが、大きな謎であった。

この酵素TPSTとターゲットとなるタンパク質を硫酸化修飾するメカニズムを明らかにするために、この酵素とターゲットタンパク質が結合している状態の立体構造を、X線結晶構造解析により原子レベルで解明することに成功した。その結果、この酵素は二量体を形成し、その二量体の間につくられる奥深い溝の部分でターゲットとなるタンパク質のチロシン残基部分を結合して、その部分で特異的に硫酸基をつけていることが判明した。また、硫酸化修飾を受ける部分は、特徴的なL字型に90度折れ曲がっていた。この構造が決定されたことにより、これまで謎であったターゲットとなるタンパク質の選別方法が明らかになった。この成果は、2013年3月Nature Communicationsおよび2017年8月Scientific Reportsに掲載された¹⁾。また、これらの「翻訳後修飾および薬物代謝における硫酸化の意義・機能に関する研究」成果に対して、研究代表者水光は2015年3月日本農芸化学会功績賞を受賞した。

その選別方法とは、「ターゲットとなるタンパク質の柔軟性の違い」と「電荷による相互作用」の2つによるものだった。柔らかい構造をしたターゲットタンパク質は、TPSTの深い溝の奥に入り込み、さらに90度折れ曲がることで活性部位の適切な位置に結合して、硫酸化修飾を受けることができる。しかし、硬い構造をしたタンパク質は、この溝に入ることができず、硫酸化修飾を受けることはできない。また、TPSTが持つ深い溝表面には、プラスの電荷が多数準備されていて、ターゲットとなるタンパク質のマイナスの電荷を持った部分を特異的に認識する。

このように、TPSTは、様々なタンパク質の柔軟性の違いと電荷による相互作用の両方を用いて、硫酸基をつけるターゲットタンパク質を選別していることが明らかになった。

2. 研究の目的

本研究では、ウイルス感染予防を目的として、ゼブラフィッシュ等をモデル生物として硫酸化に必要な活性硫酸(PAPS)の生合成を担っている遺伝子ノックダウンを行い、TPSTによるタンパク質硫酸化阻害効果を検証するものである。計画は以下の4つからなる。

- (1) 2種類の活性硫酸生合成酵素(PAPSS)遺伝子のクローニングとそれらの諸性質検討を行う。
- (2) 3種類のPAPSS遺伝子のノックダウンを行い、初期発生過程に及ぼす影響を解明する。

チロシン硫酸化...チロシン残基に硫酸基が付与される翻訳後修飾。
分泌タンパク質や膜タンパク質を標的とする。
その反応はTPST(Tyrosylprotein sulfotransferase)によって触媒される。

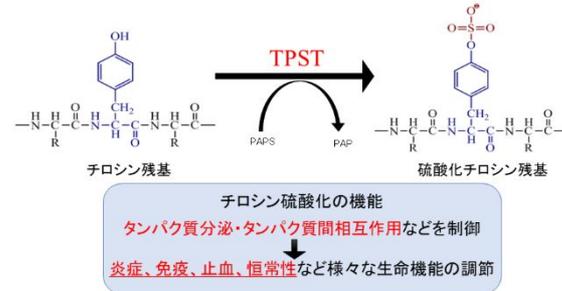


図1 タンパク質チロシン硫酸化反応機構

(3) 3種類の PAPSS 遺伝子のノックダウン個体のプロテオーム解析を行い、有意に異なる挙動を示すタンパク質を特定・同定する。

(4) ゼブラフィッシュおよびヒト肝がん細胞 HepG2 をモデルとした TPST 遺伝子ノックダウンによる生理機能解析を行う。

3. 研究の方法

(1) 2種類の活性硫酸生成酵素(PAPSS)遺伝子のクローニングとそれらの諸性質検討

脊椎動物では、ゲノム上に PAPSS 遺伝子が複数存在しており、ヒトにおいては PAPSS1 および PAPSS2 の 2 種類の存在が知られている。2 種類の PAPSS 間の生理機能の差異を脊椎動物モデルであるゼブラフィッシュを用いて検討した。ゼブラフィッシュの 2 種類の PAPSS をそれぞれクローニングし、大腸菌を用いてサブクローニングした後、タンパク質を発現させた。それらの諸性質の検討として、アミノ酸配列レベルでの相同性、活性硫酸 PAPS の生成を指標として至適 pH 等の諸性質を検討した。なお、PAPS 生成の指標は、放射線標識した ³⁵S-硫酸を用いて [³⁵S]-PAPS 生成量で判定した。

(2) 3種類の PAPSS 遺伝子のノックダウンと初期発生過程に及ぼす影響の解明

モリフォリノアンチセンスオリゴを用いて、3種類の PAPSS の遺伝子ノックダウンも行き、それぞれおよび全遺伝子ノックダウンの表現系を観察した。なお、手法はアンチセンスオリゴを 1~2 細胞期の受精卵にインジェクションして、インジェクション後 24 時間および 48 時間後のゼブラフィッシュの表現系を観察した。

(3) 3種類の PAPSS 遺伝子のノックダウン個体のプロテオーム解析と有意に異なる挙動を示すタンパク質の特定・同定

手法は、蛍光ディファレンシャル二次元電気泳動(2D-DIGE)による多重比較解析を行い、発現挙動の異なるタンパク質を質量解析して同定した。

(4) ゼブラフィッシュおよびヒト肝がん細胞 HepG2 をモデルとした TPST 遺伝子ノックダウンによる生理機能解析

TPST ノックダウン個体のより詳細な表現型解析および二重・三重ノックダウン個体の表現型解析を行い、TPST の更なる詳細な *in vivo* における生理機能を明らかにした。また、HepG2 細胞の TPST ノックダウン個体のタンパク質発現量に変化のあったプロテオーム解析を行った。

4. 研究成果

(1) 2種類の活性硫酸生成酵素(PAPSS)遺伝子のクローニングとそれらの諸性質検討

真核生物の生体内での硫酸化には、唯一の硫酸供与体である活性硫酸 PAPS が必須である。これらの PAPS 合成酵素遺伝子はゼブラフィッシュには 3 種類存在する。硫酸化の生理機能を解明するために、ゼブラフィッシュをモデルとした活性硫酸合成酵素(PAPSS)(今回は 2 種類のみ研究した)のクローニング・諸性質の検討を行った。

その結果、生理的 pH 条件下において、zfPAPSS 1 は zfPAPSS2 よりも ATP に対する親和性が高く最大反応速度が遅く、温度安定性が低いことが明らかとなった。

(2) 3種類の PAPSS 遺伝子のノックダウンと初期発生過程に及ぼす影響の解明

翻訳後修飾としてのチロシン硫酸化と低分子生体内生理活性物質の硫酸化の機能性解明のため、ゼブラフィッシュ中の 3 種類ある PAPS 合成遺伝子をノックダウンした場合の、胚発生に及ぼす影響を詳細に

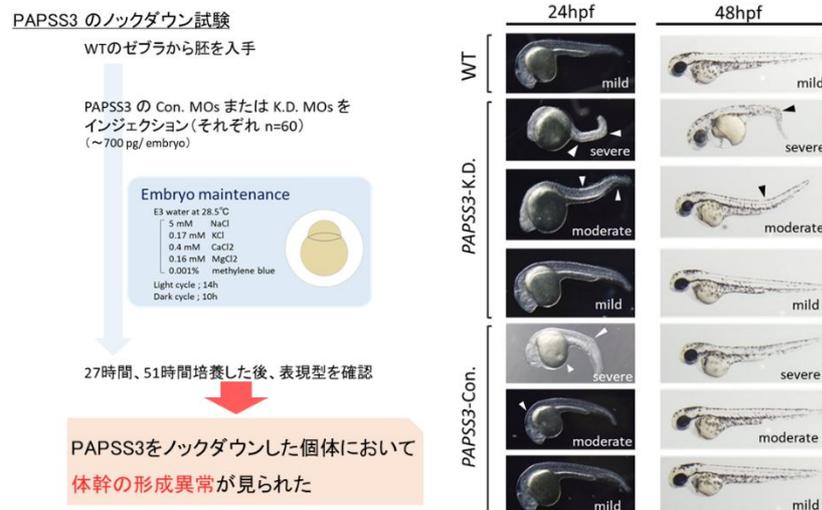


図2 PAPSSノックダウンによる表現型の変化

検討した。

その結果、24時間後のゼブラフィッシュの表現型は、PAPSS1/2/3いずれも背骨の屈曲が顕著に現れた。このことは、ヒトの PAPSS2 欠損時の臨床症状と類似していた。また、48時間後も PAPSS1/2/3いずれも背骨の屈曲が顕著に現れた。これもヒトの PAPSS2 欠損時の臨床症状と類似していた。これらのことから、軟骨組織における PAPSS アイソフォーム間の発現量の違いに影響していることが考えられ、表現型が酷似していることから PAPSS1,2,3 の生理機能はオーバーラップしている可能性が示唆された。(図2)

(3) 3種類の PAPSS 遺伝子のノックダウン個体のプロテオーム解析と有意に異なる挙動を示すタンパク質の特定・同定

ノックダウンした胚を ³⁵S 同位体で代謝ラベルした後、SDS-PAGE にて硫酸化タンパク質を解析した結果、対照区に比べて異なるスポットがいくつか確認された。

(4) ゼブラフィッシュおよびヒト肝がん細胞 HepG2 をモデルとした TPST 遺伝子ノックダウンによる生理機能解析

ゼブラフィッシュをモデルとした TPST 遺伝子ノックダウンによる生理機能解析から、TPST は、胚発生に重要な影響を与えていることを既に明らかにした。TPST の機能を更に詳細に検討するために、多くのタンパク質がチロシン硫酸化されているヒト肝癌由来細胞株 HepG2 を用いて、siRNA を導入し TPST-1 および 2 のノックダウン細胞を作成した。

その結果、HepG2 に

適した siRNA 処理条件を決定することが出来、TPST-1, 2 それぞれ高効率でノックダウンする siRNA を選抜し、mRNA、タンパク質レベルでの発現量減少を確認することが出来た。また、TPST ノックダウン細胞では 20%程度のペプチド硫酸化活性の低下が確認された。さらに、TPST-1, 2 のノックダウンにおいてペルオキシレドキシンや Hsp70 などのストレス応答分子を中心に発現変動が確認された。(図3)

引用文献

1) Teramoto, T., Fujikawa, Y., Kawaguchi, Y., Kurogi, K., Soejima, M., Adachi, R., Nakanishi, Y., Mishiro-Sato, E., Liu, M.-C., Sakakibara, Y., Suiko, M., Kimura, M. and Kakuta, Y., "Crystal structure of human tyrosylprotein sulfotransferase-2 reveals the mechanism of protein tyrosine sulfation reaction." *Nature communication*, 4, 1572 (2013) doi: 10.1038/ncomms2593.

1. siRNAによるHepG2細胞 TPST ノックダウン 条件検討、siRNA選抜
→ TPST1 (hs.R1.TPST1.133) TPST 2(hs.R1.TPST2.133) 10 nMが最適
2. TPST ノックダウンサンプル 硫酸化活性測定
→ やや活性の減少を確認。
3. TPST ノックダウン 蛍光ディフレンシャル二次元電気泳動
→ TPST-1, TPST-2 KDでの特異的な変動を確認、2つのTPSTどちらかが特異的に関与している。
→ TPST-1, TPST-2 KDで共通に発現変動している2つのTPSTどちらもタンパク質発現に必須である。
→ TPST-1,2 WKOでの発現変動を確認、2つのTPSTどちらも関与している。または、どちらか片方が関与している。

図3 HepG2をモデルとしたTPST遺伝子ノックダウンによる生理機能解析

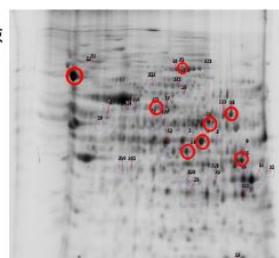


図3. TPST1&2 WKO 二次元電気泳動結果
表. TPST-1, -2 WKO 各スポットの同定タンパク質

名称
4: Enolase α
14: Isocitrate dehydrogenase(NADP) cytoplasmic
53: Heat shock protein HSP-90-β
63: UDP-glucose-6-dehydrogenase
66: Fructose-bisphosphate aldolase A
73: Elongation factor 2
95: Pyruvate kinase PKM
133: L-lactate dehydrogenase A chain

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計22件（うち査読付論文 21件 / うち国際共著 17件 / うちオープンアクセス 16件）

1. 著者名 Tsutsumi, S., Tokunaga, Y., Shimizu, S., Kinoshita, H., Ono, M., Kurogi, K., Sakakibara, Y., Suiko, M., Liu, M.C., Yasuda, S.	4. 巻 84
2. 論文標題 Investigation of the effects of indoxyl sulfate, a uremic toxin, on the intracellular oxidation level and phagocytic activity using an HL-60-differentiated human macrophage cell model.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1023-1029
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2020.1715782.	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 Alherz, F.A., El, Daibani, A.A., Abunnaja, M.S., Bairam, A.F., Rasool, M.I., Sakakibara, Y., Suiko, M., Kurogi, K., Liu, M.-C.	4. 巻 496
2. 論文標題 Effect of SULT2B1 genetic polymorphisms on the sulfation of dehydroepiandrosterone and pregnenolone by SULT2B1b allozymes.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular and Cellular Endocrinology	6. 最初と最後の頁 110535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mce.2019.110535.	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 橋口拓勇, 黒木勝久, 水光正仁, 榊原陽一	4. 巻 93
2. 論文標題 脂溶性ビタミンの硫酸抱合代謝	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ビタミン	6. 最初と最後の頁 128-132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.20632/vso.93.3_128	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 橋口拓勇, 黒木勝久, 水光正仁, 榊原陽一	4. 巻 72
2. 論文標題 ステロイド代謝におけるステロイドの硫酸化反応の制御とその生理的意義	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 硫酸と工業	6. 最初と最後の頁 8-14
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 神力はるな, 近藤知巳, 永瀧清子, 福井敬一, 黒木勝久, 水光正仁, 榊原陽一	4. 巻 66
2. 論文標題 レトルト加工および保蔵期間が鶏肉のイミダゾールジペプチド含有量に及ぼす影響	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本食品科学工学会誌	6. 最初と最後の頁 210-214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3136/nskkk.66.210.	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 Kurogi, K., Yoshihama, M., Williams, F.E., Kenmochi, N., Sakakibara, Y., Suiko, M., Liu, M.-C.	4. 巻 185
2. 論文標題 Identification of zebrafish steroid sulfatase and comparative analysis of the enzymatic properties with human steroid sulfatase.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 110-117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jsbmb.2018.08.004.	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 該当する

1. 著者名 Sugahara, S., Fukuhara, K., Tokunaga, Y., Tsutsumi, S., Ueda, Y., Ono, M., Kurogi, K., Sakakibara, Y., Suiko, M., Liu, M.-C., Yasuda, S.	4. 巻 43
2. 論文標題 Radical scavenging effects of 1-naphtol, 2-naphtol, and their sulfate-conjugates.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Toxicological Sciences	6. 最初と最後の頁 213-221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2131/jts.43.213.	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 該当する

1. 著者名 Abunnaja, M.S., Alherz, F.A., El, Daibani, A.A., Bairam, A.F., Rasool, M.I., Gohal, S.A., Kurogi, K., Sakakibara, Y., Suiko, M., Liu, M.-C.	4. 巻 96
2. 論文標題 Effects of genetic polymorphisms on the sulfation of dehydroepiandrosterone and pregnenolone by human cytosolic sulfotransferase SULT2A1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemistry and Cell Biology	6. 最初と最後の頁 655-662
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1139/bcb-2017-0341.	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 Shimohira, T., Kurogi, K., Liu, M.-C., Suiko, M., Sakakibara, Y.	4. 巻 82
2. 論文標題 The critical role of His48 in mouse cytosolic sulfotransferase SULT2A8 for the 7 α -hydroxyl sulfation of bile acids	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1359-1365
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2018.1464897.	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 Alherz, F.A., Daibani, A.A., Bairam, A.F., Abunnaja, M.S., El, Rasool, M.I., Kurogi, K., Sakakibara, Y., Suiko, M., Liu, M.-C.	4. 巻 164
2. 論文標題 On the role of genetic polymorphisms in the cholesterol by human cytosolic sulphotransferase SULT2B1b	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 215-221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvy042	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 該当する

1. 著者名 Bairam, A.F., Rasool, M.I., Alherz, F.A., Abunnaja, M.S., El Daibani, A.A., Gohal, S.A., Kurogi, K., Sakakibara, Y., Suiko, M., Liu, M.-C.	4. 巻 151
2. 論文標題 Sulfation of catecholamines and serotonin by SULT1A3 allozymes.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemical Pharmacology	6. 最初と最後の頁 104-113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bcp.2018.03.005.	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 該当する

1. 著者名 Miller, E., Zalzala, M.H., Abunnaja, M.S., Kurogi, K., Sakakibara, Y., Suiko, M., Liu, M.-C.	4. 巻 43
2. 論文標題 Effects of human sulfotransferase 2A1 genetic polymorphisms 3 on the sulfation of Tibolone.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics	6. 最初と最後の頁 415-421
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13318-017-0458-2.	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 該当する

1. 著者名 Shimohira, T., Kurogi, K., Hashiguchi, T., Liu, M.-C., Suiko, M., Sakakibara, Y.	4. 巻 124
2. 論文標題 Regioselective production of sulfated polyphenols using human cytosolic sulfotransferase-expressing <i>Escherichia coli</i> cells.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 84-90
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2017.02.006.	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 該当する

1. 著者名 Abunnaja, M. S., Kurogi, K., Mohammed, Y. I., Sakakibara, Y., Suiko, M., Hassoun, E., Liu, M.-C.	4. 巻 31
2. 論文標題 Identification and characterization of the zebrafish glutathione S-transferase Pi-1.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Biochemical and Molecular Toxicology	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/jbt.21948	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 Kurogi, K., Sakakibara, Y., Suiko, M., Liu, M.-C.	4. 巻 591
2. 論文標題 Identification and characterization of the responsible human cytosolic sulfotransferases.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Federation of European Biochemical Societies Letters	6. 最初と最後の頁 2417-2425
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.12767.	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 該当する

1. 著者名 Hashiguchi, T., Kurogi, K., Shimohira, T., Teramoto, T., Liu, M.-C., Suiko, M., Sakakibara, Y.	4. 巻 1861
2. 論文標題 4-3-Ketosteroids as a new class of substrates for the cytosolic sulfotransferases.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta	6. 最初と最後の頁 2883-2890
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2017.08.005.	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 該当する

1. 著者名 Kurogi, K., Yoshihama, M., Horton, A., Schiefer, I.T., Krasowski, M.D., Hagey, L.R., Williams, F.E., Sakakibara, Y., Kenmochi, N., Suiko, M., Liu, M.-C.	4. 巻 174
2. 論文標題 Identification and characterization of 5alpha-cyprinol-sulfating cytosolic sulfotransferases (Sults) in the Zebrafish (Danio rerio).	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 120-127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jsmb.2017.08.005.	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 該当する

1. 著者名 Tanaka, S., Nishiyori, T., Kojo, H., Otsubo, R., Tsuruta, M., Kurogi, K., Liu, M.-C., Suiko, M., Sakakibara, Y., Kakuta, Y.	4. 巻 7
2. 論文標題 Structural basis for the broad substrate specificity of the human tyrosylprotein sulfotransferase-1.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8776
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-07141-8.	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 該当する

1. 著者名 Kurogi, K., Shimohira, T., Kouriki-Nagatomo, H., Zhang, G., Miller, E.R., Sakakibara, Y., Suiko, M., Liu, M.-C.	4. 巻 162
2. 論文標題 Human cytosolic sulphotransferase SULT1C3: genomic analysis and functional characterization of splice variant SULT1C3 and SULT1C3d.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 403-414
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvx044.	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 該当する

1. 著者名 Takao, H., Hirabayashi, K., Nishigaya, Y., Kouriki, H., Nakaniwa, T., Hagiwara, Y., Harada, J., Sato, H., Yamazaki, T., Sakakibara, Y., Suiko, M., Asada, Y., Takahashi, Y., Yamamoto, K., Fukuyama, K., Sugishima, M., Wada, K.	4. 巻 8
2. 論文標題 A substrate-bound structure of cyanobacteria biliverdin reductase identifies stacked substrates as critical for activity.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature communication	6. 最初と最後の頁 14397
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/ncomms14397.	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 Tokumar, M., Adachi, F., Toda, M., Ito-Inaba, Y., Yazu, F., Hirose, Y., Sakakibara, Y., Suiko, M., Kakizaki, T., Inaba, T.	4. 巻 173
2. 論文標題 Ubiquitin-proteasome dependent regulation of GOLDEN2-LIKE 1 in response to plastid signals in Arabidopsis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 524-535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1104/pp.16.01546.	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 Suiko, M., Kurogi, K., Hashiguchi, T., Sakakibara, Y., Liu, M.-C.	4. 巻 81
2. 論文標題 Updated perspectives on the cytosolic sulfotransferases (SULTs) and SULT-mediated sulfation.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 63-72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2016.1222266.	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 該当する

[学会発表] 計31件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 中野悠、黒木勝久、リュウ ミンチェー、水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 食品成分抱合型代謝産物の質量分析解析法の確立
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会 (福岡市)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 児玉直輝、黒木勝久、Ming-Cheh Liu、水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 プロスタグランジンA2硫酸抱合体のプロスタグランジン受容体を介した生理機能の解明
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会 (福岡市)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 黒木勝久、大田輝、永濱清子、水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 ターゲットプロテオミクスによる食品機能予測システムの確立を目指して
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会（福岡市）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kurogi, K., Ota, A., Nagahama, K., Suiko, M., Sakakibara, Y.
2. 発表標題 Targeted proteomics approach to the simultaneous evaluation of multiple functions of food components
3. 学会等名 The 7th International Conference on Food Factors (Kobe)（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒木勝久、児玉直輝、横田磨白、Ming-Cheh Liu、水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 脂肪酸由来alpha,beta-不飽和アルデヒドの硫酸化による代謝の検討
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度西日本・中四国支部合同沖縄大会（沖縄）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堤秀平、徳永祐希、志水隼輔、木下英樹、小野政輝、黒木勝久、榊原陽一、水光正仁、安田伸
2. 発表標題 ヒトマクロファージ細胞モデルにおける細胞内酸化レベルおよび食能に及ぼす尿毒素Indoxyl Sulfateの役割
3. 学会等名 2019年度日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部および日本食品科学工学会西日本支部合同大会（佐賀市）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒木葉月、大川瑛梨子、堤秀平、上田裕人、木下英樹、小野政輝、黒木勝久、榊原陽一、水光正仁、安田伸
2. 発表標題 Hydroquinoneの強力な抗酸化活性と硫酸化代謝物との比較
3. 学会等名 2019年度日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部および日本食品科学工学会西日本支部合同大会（佐賀市）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒木勝久、寺本岳大、角田佳充、Ming-Cheh Liu、水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 高エネルギー硫酸ヌクレオチド分子を利用した生体内代謝：硫酸転移酵素の多様な生理機能の解明
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会（宮崎市）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒木勝久、横山浩太郎、水光正仁、Ming-Cheh Liu、榊原陽一
2. 発表標題 ヌクレオチド受容体(PY2)に対する活性硫酸PAPSおよびPAPの作用可能性に関する研究
3. 学会等名 第43回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム（福岡県芦屋町）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大田輝、黒木勝久、永濱清子、水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 バイオマーカータンパク質定量による食品機能予測システムの確立
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2019年大会（宮崎市）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥田菜月、黒木勝久、近藤知己、三城恵美、剣持直哉、Ming-Cheh Liu、水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 ゼブラフィッシュをモデルとしたチロシン硫酸化の生理機能解明
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2019年大会（宮崎市）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥田菜月、黒木勝久、上中勝護、剣持直哉、水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 ゼブラフィッシュ用いたPAPS合成酵素発現阻害による硫酸化の生理機能解明
3. 学会等名 2019年度日本生化学会九州支部例会（長崎市）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 眞鍋曜子、黒木勝久、Ming-Cheh Liu、水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 コモンマーモセット硫酸転移酵素SULT1Cサブファミリーの酵素諸性質解析
3. 学会等名 2019年度日本生化学会九州支部例会（長崎市）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 櫻森卓郎、黒木勝久、佐竹祐介、水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 ファルネソイドX受容体(FXR)活性化食品成分の探索
3. 学会等名 2019年度（第23回）生物機能研究会（松山市）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 児玉直輝、黒木勝久、Ming-Cheh Liu、水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 抱合型プロスタグランジン代謝物の調製と受容体を介する作用解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会（東京）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 ○吉田実央、徳永祐希、衛藤裕貴、堤秀平、上田裕人、木下英樹、小野政輝、黒木勝久、榊原陽一、水光正仁、安田伸
2. 発表標題 Tyrosine硫酸体の有機合成法を用いたAcetaminophen硫酸体合成の検証
3. 学会等名 第55回化学関連支部合同九州大会（北九州市）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 ○堤秀平、菅原進太郎、徳永祐希、志水隼輔、木下英樹、小野政輝、黒木勝久、榊原陽一、水光正仁、安田伸
2. 発表標題 尿毒症物質Indoxyl sulfateとその関連代謝物の抗酸化活性およびヒト血清アルブミンとの結合能の評価
3. 学会等名 第55回化学関連支部合同九州大会（北九州市）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 ○児玉直輝、黒木勝久、Ming-Cheh Liu、水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 シクロベンテノンプロスタグランジン代謝体の受容体を介する作用解析
3. 学会等名 平成30年度日本生化学会九州支部例会（福岡市）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 ○眞鍋曜子、黒木勝久、Ming-Cheh Liu, 水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 コモンマーモセット硫酸転移酵素SULT1Cサブファミリーに関する研究
3. 学会等名 平成30年度日本生化学会九州支部例会（福岡市）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 ○黒木勝久、児玉直輝、水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 脂質由来a, -b-不飽和アルデヒドおよびカルボニル化合物の硫酸化に関する研究
3. 学会等名 第42回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム（佐賀市）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 ○堤秀平、菅原進太郎、徳永祐希、志水隼輔、木下英樹、小野政輝、黒木勝久、榊原陽一、水光正仁、安田伸
2. 発表標題 食事性タンパク質由来代謝物indoxyl sulfateの好中球細胞酸化促進作用
3. 学会等名 平成29年度日本農芸化学会2018年度西日本支部大会（熊本市）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 ○若本拓朗、神力はるな、下平武彦、永濱清子、黒木勝久、水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 鶏肉加工品に含まれるイミダゾールジペプチド含量の定量解析
3. 学会等名 平成30年度日本栄養・食糧学会 九州・沖縄支部大会（宮崎市）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 ○黒木勝久、児玉直輝、水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 脂質由来a, -b-不飽和アルデヒドおよびカルボニル化合物の硫酸化に関する研究
3. 学会等名 平成30年度内外環境応答・代謝酵素研究会（鳥取市）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 神力はるな、長濱清子、服部秀美、黒木勝久、築地加代子、水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 チョウザメおよびその含有成分の機能性
3. 学会等名 日本農芸化学会2018年度大会（名古屋市）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 黒木 勝久、榊原 陽一、Liu Ming-Cheh、水光 正仁
2. 発表標題 プロスタグランジン代謝物のプロスタグランジン受容体への作用解析
3. 学会等名 日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部2017年度合同大阪大会（堺市）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 下平武彦、黒木勝久、園田真紀子、Ming-Cheh Liu、水光正仁、角田佳充、榊原陽一
2. 発表標題 胆汁酸7位特異的硫酸転移酵素SULT2A8の生理機能解明
3. 学会等名 第41回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム（熊本県高森町）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉瀬仁宣、下平武彦、黒木勝久、水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 ミクロソーム局在性フェノール硫酸転移酵素の同定を目指した酵素学的研究
3. 学会等名 第41回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム（熊本県高森町）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 杉尾里和、下平武彦、神力はるな、長濱清子、近藤知己、水光正仁、黒木勝久、榊原陽一
2. 発表標題 小胞体ストレスを軽減する食品成分の探索
3. 学会等名 平成29年度日本生化学会九州支部例会（宮崎市）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 石川和希、吉瀬仁宣、下平武彦、水光正仁、黒木勝久、榊原陽一
2. 発表標題 肥育ホルモン硫酸化活性を有するbovine SULTの同定
3. 学会等名 平成29年度日本生化学会九州支部例会（宮崎市）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 堤秀平、菅原進太郎、徳永祐希、志水隼輔、木下英樹、小野政輝、黒木勝久、榊原陽一、水光正仁、安田伸
2. 発表標題 Tryptophan由来の尿毒症物質indoxyl sulfateとその関連代謝物の抗酸化活性
3. 学会等名 フードサイエンスフォーラム第23回学術集会（宮崎市）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 下平武彦、黒木勝久、Ming-Cheh Liu, 水光正仁、榊原陽一
2. 発表標題 胆汁酸7位硫酸転移酵素の諸性質検討
3. 学会等名 第24回日本生物工学会九州支部沖縄大会（沖縄県）
4. 発表年 2017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
研究分担者	榊原 陽一 (SAKAKIBARA Yoichi) (90295197)	宮崎大学・農学部・教授 (17601)	
研究分担者	黒木 勝久 (KUROGI Katsuhisa) (20647036)	宮崎大学・農学部・助教 (17601)	