

令和 6 年 4 月 25 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06085

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

研究課題名(英文) Studies on the degradative 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) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：遊離の D-グルタミン酸(D-Glu)の分解酵素である哺乳類 D-Glu シクラーゼ(DGLUCY；D-Glu を 5-オキソ-D-プロリンと水に分解する反応を可逆的に触媒する酵素)の酵素活性を、吸光度計を用いた比色定量に基づき迅速かつ簡便に測定する新規測定法を開発した。次に、DGLUCY の構造機能相関の解明に向けて、マウス DGLUCY の N 末側領域のみ、および C 末側領域のみを発現する大腸菌を培養し、これらの組換えタンパク質の精製を試みた。その結果、N 末側領域はほぼ単一の状態で精製される一方で、C 末側領域は様々な培養条件においても可溶性画分に回収されない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)を分解する酵素として D-Glu シクラーゼを同定し、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などを明らかにした。すなわち、哺乳類は D-Glu の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、吸光度計を用いた比色定量に基づき、DGLUCY 活性を迅速かつ簡便に測定する新規測定法を開発した。また、DGLUCY の構造機能相関を解析した。本研究成果は、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)： In mammals, metabolism of free D-glutamate is regulated by D-glutamate cyclase (DGLUCY), which reversibly converts D-glutamate to 5-oxo-D-proline and H₂O. In this study, we established a simple, accurate, and sensitive colorimetric assay method for measuring DGLUCY activity. Furthermore, we performed the study to elucidate the structure-function relationship of DGLUCY. Specifically, we cultured Escherichia coli cells that express the N-terminal region or C-terminal region of mouse DGLUCY, and tried to purify their recombinant proteins. The results indicated that the recombinant form of the N-terminal region of mouse DGLUCY was purified to near homogeneity. By contrast, the recombinant form of the C-terminal region of mouse DGLUCY was not recovered into the soluble fraction even under a wide range of culture conditions.

研究分野：分析科学 / 生化学 / 分子生物学

キーワード：D-グルタミン酸シクラーゼ D-グルタミン酸分解酵素 D-グルタミン酸 5-オキソ-D-プロリン D-アミノ酸 比色定量法 心臓 心不全

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。D-Asp や D-Glu といった酸性 D-アミノ酸は、*in vitro* では D-Asp オキシダーゼによって分解されることが知られている。この酵素遺伝子のノックアウトマウスの体内では、様々な組織で D-Asp 含量が上昇する。これとは対照的に、D-Glu 含量には変化が認められず、D-Glu を *in vivo* で分解する生体内酵素は長い間不明であった。

このような背景において、我々は以前に、横行大動脈縮窄術により作成した心不全モデルマウスで発現量が低下するタンパク質として、D-Glu の分解反応を可逆的に触媒する D-Glu シクラゼ (DGLUCY) を同定した (Fig. 1)。また、この酵素遺伝子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、本酵素が *in vivo* で D-Glu を分解する唯一の生体内酵素であることを明らかにした。さらに、大腸菌で発現させて精製したマウス組換え DGLUCY の酵素学的性質・機能の詳細を解析し、本酵素が「D-Glu \rightarrow 5-オキソ-D-プロリン (5-オキソ-D-Pro) + H₂O」方向の反応を (逆方向の反応よりも) 優位に触媒することなどを明らかにした。

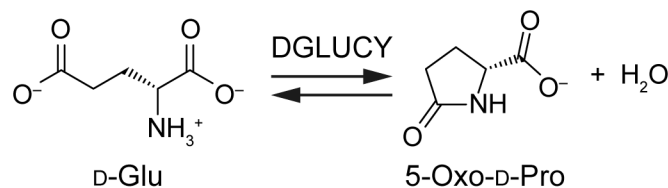


Fig. 1 Reaction catalyzed by D-Glu cyclase (DGLUCY). DGLUCY reversibly converts D-Glu to 5-oxo-D-proline (5-oxo-D-Pro) and H₂O.

また、脊椎動物の DGLUCY の N 末側および C 末側それぞれには機能未知の DUF1445 および DUF4392 ドメインが存在する一方で、細菌や無脊椎動物に存在する本酵素のホモログでは DUF1445 ドメインを含む N 末側領域が欠失していることを明らかにした。すなわち、脊椎動物の DGLUCY には、その機能に重要な、N 末側および C 末側領域それぞれが独自に担っている (または両領域が共役して担っている) 分子機構が存在することが想定された。

2. 研究の目的

本研究の目的は、DGLUCY による D-Glu の 5-オキソ-D-Pro への代謝機構の全貌を解明することである。DGLUCY を対象とした研究では、本酵素活性の測定法、すなわち、基質である D-Glu から、反応生成物である 5-オキソ-D-Pro を分離して正確に測定することが重要になる。遺伝配列やアミノ酸配列の決定には至っていなかったが、哺乳類の肝臓および腎臓中に DGLUCY が存在することは、約 60 年前に見出されていた。これらの先行研究では、5-オキソ-D-Pro をイオン交換クロマトグラフィーで D-Glu から分離・回収し、それから薄層クロマトグラフィーで検出することにより、DGLUCY 活性を測定している。一方、我々は以前に、分離から検出までを一体化した高速液体クロマトグラフィー (HPLC) と紫外 (UV) 可視光検出器を組み合わせた測定法 (HPLC-UV 法) を開発した。しかし、この方法は HPLC を用いたものであるため、多サンプルを同時に解析できないといった効率の悪さや、時間がかかるといった欠点があった。そこで本研究では、より迅速かつ簡便な、吸光度計を用いた比色定量に基づいた測定法を開発し、DGLUCY を解析した。また、DGLUCY の構造機能相関を明らかにするために、本酵素の N 末側および C 末側領域それぞれを別個に調製し、それらのタンパク質の酵素学的性質・機能の分子レベルでの解明に向けた研究を展開した。

3. 研究の方法

(1) DGLUCY 活性の迅速かつ簡便な測定法の開発

これまでに、カルボン酸の検出を目的とした様々な比色定量法が開発されている。例えば、触媒としての 1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド (EDC) 存在下、様々なカルボン酸のカルボキシ基が 2-ニトロフェニルヒドラジン (2-NPH) で誘導體化され、塩基性溶液中で濃い紫色に呈色することが報告されている。そこで、EDC の存在下、5-オキソ-D-Pro を 2-NPH で誘導體化する最適な条件を検討した。また、最適化した条件における比色定量法と、HPLC-UV 法の感度を比較した。さらに、大腸菌で発現させて精製したマウス組換え DGLUCY

を用いて、比色定量法が、DGLUCY の酵素活性の測定に適用可能かどうかを解析した。また、比色定量法が、細胞可溶化液中における DGLUCY の酵素活性の測定に適用可能かどうかを解析した。具体的には、下記 ① ~ ⑧ の実験を行なった。

- ① EDC の存在下、5-オキシ-D-Pro 標品を 2-NPH で誘導体化し、その可視部における吸収スペクトルを解析した。
- ② 2-NPH による 5-オキシ-D-Pro の誘導体化に対する温度および反応時間の影響を解析した。
- ③ 2-NPH による 5-オキシ-D-Pro の誘導体化に対する EDC 濃度の影響を解析した。
- ④ 分子メカニズムの詳細は不明であるが、EDC 存在下におけるカルボン酸の誘導体化において、少量のピリジンが誘導体化反応を促進することが報告されている。そこで、2-NPH による 5-オキシ-D-Pro の誘導体化に対するピリジン濃度の影響を解析した。
- ⑤ 2-NPH による 5-オキシ-D-Pro の誘導体化に対する 2-NPH 濃度の影響を解析した。
- ⑥ 最適化した条件で、比色定量法による 5-オキシ-D-Pro の検量線を作成した。この際、吸光度測定は 96-well プレートおよび 384-well プレートを用いて行なった。また、コントロールとして、HPLC-UV 法による 5-オキシ-D-Pro 検量線も作成した。
- ⑦ 比色定量法を用いてマウス組換え DGLUCY の D-Glu に対するミカエリス定数 (K_m) および分子活性 (k_{cat}) を決定し、HPLC-UV 法を用いて決定した値と比較した。
- ⑧ 野生型および DGLUCY ノックアウトマウスそれぞれから樹立したマウス胎仔線維芽細胞 (MEF) の可溶化液を酵素源として DGLUCY 活性を測定することにより、比色定量法の正確性ととも頑健性を解析した。

(2) DGLUCY の構造機能相関の解析

我々は既に、C 末端に His タグが付加された、マウス DGLUCY の N 末側領域 (a.a. 26–297) のみ、および C 末側領域 (a.a. 298–617) のみを発現する大腸菌株を樹立済みであった。そこで、これらの組換えタンパク質の発現における諸条件 (大腸菌の培養条件) を検討した。また、可溶性画分に回収された組換えタンパク質を精製した。具体的には、下記 ⑨ ~ ⑪ の実験を行なった。

- ⑨ C 末端に His タグが付加されたマウス DGLUCY の N 末側領域のみを発現させた大腸菌を培養し、遠心による集菌後、超音波処理により菌体を破碎した。引き続き、遠心により得られた上清および沈殿物それぞれを可溶性画分および不溶性画分として回収した。この際の大腸菌の培養における、培養温度、発現誘導剤である isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside (IPTG) の添加濃度、および IPTG 添加後の培養温度を変動させて解析し、発現させた組換えタンパク質が効率よく可溶性画分に回収される条件を検討した。可溶性画分および不溶性画分に含まれる組換えタンパク質の検出は、それらをサンプルとした SDS-PAGE に引き続き、抗 His タグ抗体を用いたウェスタンブロッティングにより行なった。
- ⑩ 可溶性画分に含まれる組換えタンパク質 (C 末端に His タグが付加されたマウス DGLUCY の N 末側領域のみ) を、Ni カラムを用いたアフィニティークロマトグラフィーにより精製した。精製の純度は、SDS-PAGE に引き続きクマシー染色により解析した。
- ⑪ C 末端に His タグが付加されたマウス DGLUCY の C 末側領域のみを発現させた大腸菌を培養し、遠心による集菌後、超音波処理により菌体を破碎した。引き続き、遠心により得られた上清および沈殿物それぞれを可溶性画分および不溶性画分として回収した。この際の大腸菌の培養における、培養温度、発現誘導剤である IPTG の添加濃度、および IPTG 添加後の培養温度を変動させて解析し、発現させた組換えタンパク質が効率よく可溶性画分に回収される条件を検討した。可溶性画分および不溶性画分に含まれる組換えタンパク質の検出は、それらをサンプルとした SDS-PAGE に引き続き、抗 His タグ抗体を用いたウェスタンブロッティングにより行なった。

4. 研究成果

(1) DGLUCY 活性の迅速かつ簡便な測定法の開発

上記 ① の実験を行なった結果、吸収極大波長は 535 nm であることが明らかになった (Fig. 2A)。次に、上記 ② の実験を行なった結果、37°C で 30 分間の誘導体化反応で最も高い吸光度が得られることが明らかになった (Fig. 2B)。引き続き、上記 ③ の実験を行なった結果、40 mM EDC 存在下で最も高い吸光度が得られることが明らかになった (Fig. 2C)。また、上記 ④ の実験を行なった結果、ピリジンの濃度依存的に吸光度が減少することが明らかになった (Fig. 2D)。引き続き、上記 ⑤ の実験を行なった結果、4 mM 2-NPH 存在下で最も高い吸光度が得られることが明らかになった (Fig. 2E)。これらの結果から、40 mM EDC および 4 mM 2-NPH 存在下 (かつピリジン非存在下)、37°C で 30 分間の誘導体化反応が最適であることが明らかになった。

次に、上記 ⑥ の実験を行なったところ、96-well プレートおよび 384-well プレートを用いた比色定量法の両方において、回帰直線は良好な直線性を示し (Fig. 2F)、それらの決定係数はそれぞれ 0.9999 および 0.9997 であった。同様に、HPLC-UV 法における回帰直線も良好な直線性

を示し、その決定係数は 0.9999 であった。96-well プレートおよび 384-well プレートをを用いた比色定量法における 5-オキシ-D-Pro の定量限界は、それぞれ 157 および 29.8 pmol であった。また、HPLC-UV 法における 5-オキシ-D-Pro の定量限界は 42.7 pmol であった。すなわち、これらの結果から、96-well プレートをを用いた比色定量法が HPLC-UV 法よりも低感度である一方で、384-well プレートをを用いた比色定量法は HPLC-UV 法よりも高感度であることが明らかになった。

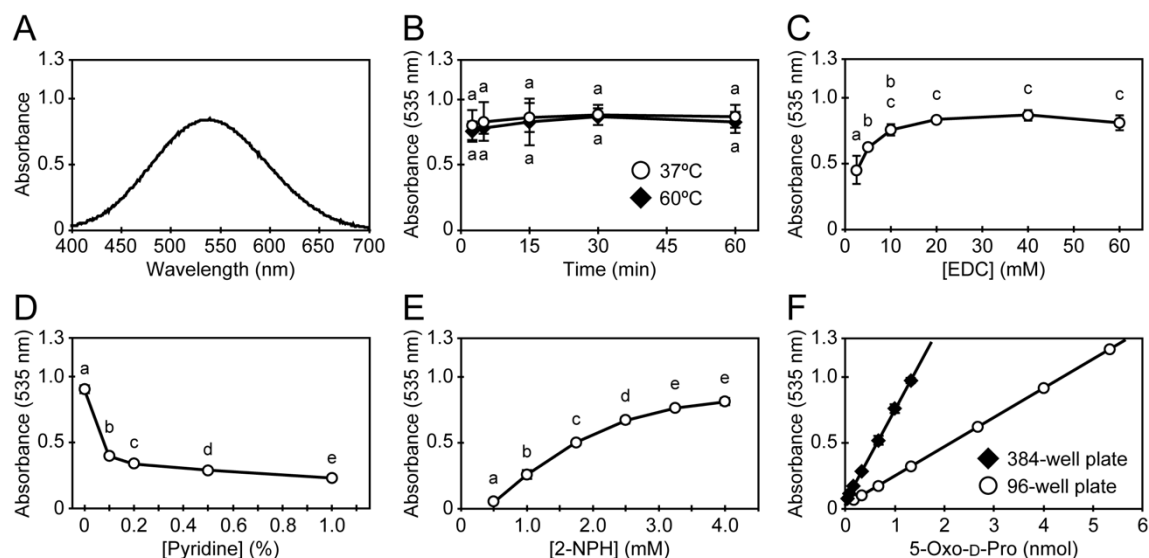


Fig. 2 Optimization of the colorimetric method for the determination of D-Glu cyclase (DGLUCY) activity and sensitivity to 5-oxo-D-Pro under the optimized conditions. (A) Absorbance spectra of derivatives formed from 5-oxo-D-Pro and 2-nitrophenylhydrazine hydrochloride (2-NPH) in an alkaline solution. Wavelength scans were carried out at room temperature in the range of 400–700 nm. (B) Effects of temperature (37°C, open circles, or 60°C, closed diamonds) and time on derivatization of 5-oxo-D-Pro with 2-NPH. Data are expressed as means \pm standard deviation ($n = 3-4$). No significant differences were detected among samples ($P \geq 0.05$, Tukey–Kramer multiple comparison test), as indicated by the use of the same letters for all symbols. (C) Effects of concentrations of 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide (EDC) on derivatization. Data are expressed as means \pm standard deviation ($n = 3$). Where not evident, error bars are smaller than the symbols used. Differences were statistically significant ($P < 0.05$, Tukey–Kramer multiple comparison test) among symbols marked with different letters. (D) Effects of pyridine concentration on derivatization. Data are expressed as means \pm standard deviation ($n = 3$). Where not evident, error bars are smaller than the symbols used. Differences were statistically significant ($P < 0.05$, Tukey–Kramer multiple comparison test) among symbols marked with different letters. (E) Effects of concentrations of 2-NPH on the derivatization. Data are expressed as means \pm standard deviation ($n = 3$). Where not evident, error bars are smaller than the symbols used. Differences were statistically significant ($P < 0.05$, Tukey–Kramer multiple comparison test) among symbols marked with different letters. (F) Sensitivity of the colorimetric method to 5-oxo-D-Pro under the optimized conditions. Calibration curves for 5-oxo-D-Pro were determined by the colorimetric method in 96-well (open circles) and 384-well (closed diamonds) plates.

引き続き、上記 ⑦ の実験を行なったところ、比色定量法を用いて決定した K_m および k_{cat} は、いずれも HPLC-UV 法を用いて決定した値と同等の値であった (Table 1)。これらの結果から、比色定量法を用いて DGLUCY の酵素活性を正確に測定できることが明らかになった。

Table 1 Apparent steady-state kinetic parameters of purified recombinant D-Glu cyclase by the indicated methods with D-Glu as substrate.

| Method | K_m (mM) | k_{cat} (min^{-1}) |
|------------------------|----------------|---------------------------------|
| HPLC-UV detection | 31.9 ± 2.3 | 35.6 ± 0.1 |
| Colorimetry (96-well) | 25.0 ± 5.3 | 39.1 ± 2.3 |
| Colorimetry (384-well) | 31.3 ± 1.9 | 39.7 ± 5.0 |

Enzymatic activity toward 5–80 mM D-Glu was determined in 50 mM borate buffer (pH 8.0) at 37°C. Data are means \pm standard deviation ($n = 3$).

次に、上記 ⑧ の実験を行なった。まず、酵素反応時間を変動させて、50 μg の細胞可溶化液中の DGLUCY 活性を測定した。予想通り、野生型マウスに由来する MEF の可溶化液を酵素源とした場合には、96-well プレートおよび 384-well プレートをを用いた比色定量法の両方において、反応産物である 5-オキシ-D-Pro の生成量が反応時間依存的に上昇した (Fig. 3)。これとは対照的に、DGLUCY ノックアウトマウスに由来する MEF の可溶化液を酵素源とした場合には、い

ずれの反応時間においても 5-オキソ-D-Pro の生成は認められなかった。次に、酵素反応時間を 15 時間に固定し、酵素源としての細胞可溶化液の量を変動させて DGLUCY 活性を測定した。予想通り、野生型マウスに由来する MEF の可溶化液を酵素源とした場合には、96-well プレートおよび 384-well プレートを用いた比色定量法の両方において、反応産物である 5-オキソ-D-Pro の生成量が容量依存的に上昇した (Fig. 4)。これとは対照的に、DGLUCY ノックアウトマウスに由来する MEF の可溶化液を酵素源とした場合には、いずれの量の細胞可溶化液においても 5-オキソ-D-Pro の生成は認められなかった。これらの結果から、比色定量法を用いて細胞可溶化液中における DGLUCY の酵素活性を正確に測定できることが示唆された。

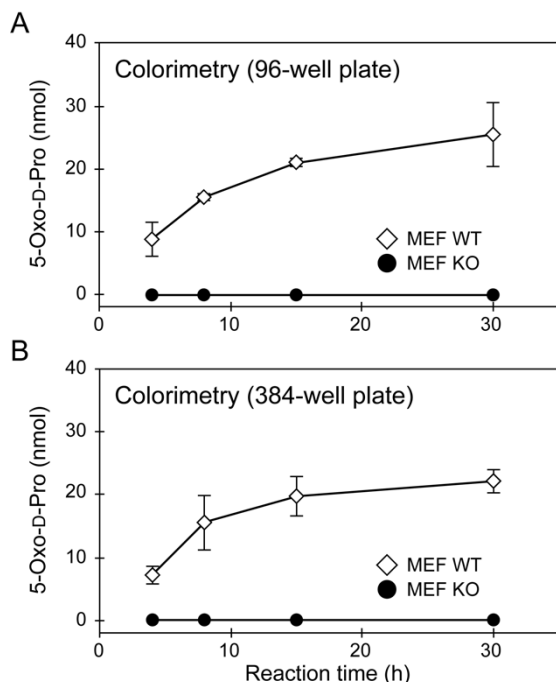


Fig. 3 Determination of D-Glu cyclase (DGLUCY) activity in cell lysates at the indicated time points using the colorimetric method. The reactions were performed for the indicated times; in these experiments, 50 μ g cell lysates prepared from wild-type (MEF WT; open diamonds) and DGLUCY-deficient (MEF KO; closed circles) mouse embryonic fibroblasts (MEFs) were used as a source of enzyme. The y-axis indicates the amounts of 5-oxo-D-Pro product, which was determined by the colorimetric method in 96-well (A) and 384-well (B) plates. Data are expressed as means \pm standard deviation ($n = 3$). Where not evident, error bars are smaller than the symbols used.

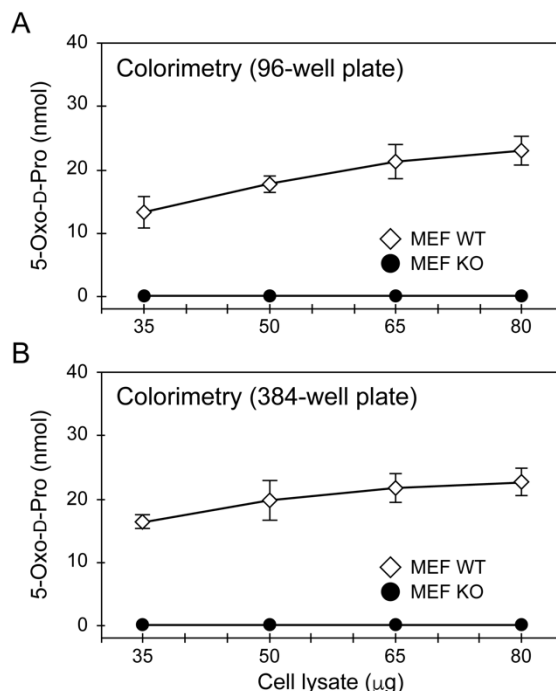


Fig. 4 Determination of D-Glu cyclase (DGLUCY) activity in the indicated amounts of cell lysates by the colorimetric method. The reactions were performed for 15 h; in these experiments, the indicated amounts of cell lysates prepared from mouse embryonic fibroblasts (MEFs) derived from wild-type mice (MEF WT; open diamonds) and DGLUCY-deficient mice (MEF KO; closed circles) were used as the source of enzyme. The y-axis indicates the amount of 5-oxo-D-Pro product, which was determined by the colorimetric method in 96-well (A) and 384-well (B) plates. Data are expressed as means \pm standard deviation ($n = 3$). Where not evident, error bars are smaller than the symbols used.

(2) DGLUCY の構造機能相関の解析

上記 ⑨ の実験を行なった結果、次の培養条件で、発現させた組換えタンパク質が最も効率よく可溶性画分に回収されることが明らかになった。すなわち、LB 培地を用いて 37°C で一晩振盪培養後、1/1000 希釈になるように培養液を新鮮な LB 培地に移して 37°C で 6 時間振盪培養した。引き続き、培養温度を 26°C に下げて 30 分間振盪培養後、終濃度が 0.5 mM になるように IPTG を添加し、26°C でさらに一晩振盪培養した。

次に、上記 ⑩ の実験を行なった。この際、Ni カラムを用いたアフィニティークロマトグラフィにおける組換えタンパク質の溶出は、5 mL の 50 mM イミダゾール溶液、2 mL の 100 mM イミダゾール溶液、2 mL の 150 mM イミダゾール溶液、および 2 mL の 500 mM イミダゾール溶液を順にカラムに添加することにより行なった。その結果、500 mM イミダゾール溶液中に組換えタンパク質がほぼ単一の状態で精製されることが明らかになった。今後、精製された組換えタンパク質を標品として用いて、マウス DGLUCY の N 末側領域のみが DGLUCY 活性を有しているかどうかを解析する予定である。

一方、上記 ⑪ の実験を行なった結果、大腸菌で発現させた、C 末端に His タグが付加されたマウス DGLUCY の C 末側領域のみは、試みたすべての培養条件で、可溶性画分には回収されず不溶性画分に回収されることが明らかになった。今後、His タグの位置を C 末端から N 末端に変更し、同様の解析を進める予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Tetsuya Miyamoto, Shinya Fushinobu, Yasuaki Saitoh, Masae Sekine, Masumi Katane, Kumiko Sakai-Kato, Hiroshi Homma | 4. 巻 291 |
| 2. 論文標題 Novel tetrahydrofolate dependent D serine dehydratase activity of serine hydroxymethyltransferases | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 The FEBS Journal | 6. 最初と最後の頁 308 ~ 322 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.16953 | 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 Tetsuya Miyamoto, Toshiyuki Moriya, Masumi Katane, Yasuaki Saitoh, Masae Sekine, Kumiko Sakai-Kato, Tairo Oshima, Hiroshi Homma | 4. 巻 289 |
| 2. 論文標題 Identification of a novel D-amino acid aminotransferase involved in D-glutamate biosynthetic pathway in the hyperthermophile <i>Thermotoga maritima</i> | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 The FEBS Journal | 6. 最初と最後の頁 5933 ~ 5946 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.16452 | 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 Tetsuya Miyamoto, Yasuaki Saitoh, Masumi Katane, Masae Sekine, Kumiko Sakai-Kato, Hiroshi Homma | 4. 巻 86 |
| 2. 論文標題 Characterization of human cystathionine γ -lyase enzyme activities toward D-amino acids | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry | 6. 最初と最後の頁 1536 ~ 1542 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbac151 | 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 Tetsuya Miyamoto, Yasuaki Saitoh, Masumi Katane, Masae Sekine, Hiroshi Homma | 4. 巻 369 |
| 2. 論文標題 YgeA is involved in L- and D-homoserine metabolism in <i>Escherichia coli</i> | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 FEMS Microbiology Letters | 6. 最初と最後の頁 fnac096 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/femsle/fnac096 | 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 齋藤 康昭、片根 真澄、本間 浩 | 4. 巻 5 |
| 2. 論文標題 寿命制御因子としての D-アミノ酸 | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 アグリバイオ | 6. 最初と最後の頁 94 ~ 97 |
| 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 Tetsuya Miyamoto, Masumi Katane, Yasuaki Saitoh, Masae Sekine, Kumiko Sakai-Kato, Hiroshi Homma | 4. 巻 53 |
| 2. 論文標題 Identification and biochemical characterization of threonine dehydratase from the hyperthermophile <i>Thermotoga maritima</i> | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Amino Acids | 6. 最初と最後の頁 903 ~ 915 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00726-021-02993-x | 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 Masumi Katane, Satsuki Matsuda, Yasuaki Saitoh, Tetsuya Miyamoto, Masae Sekine, Kumiko Sakai Kato, Hiroshi Homma | 4. 巻 122 |
| 2. 論文標題 Glyoxylate reductase/hydroxypyruvate reductase regulates the free D aspartate level in mammalian cells | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Cellular Biochemistry | 6. 最初と最後の頁 1639 ~ 1652 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcb.30110 | 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 Tetsuya Miyamoto, Yasuaki Saitoh, Masumi Katane, Masae Sekine, Kumiko Sakai Kato, Hiroshi Homma | 4. 巻 595 |
| 2. 論文標題 Acetylornithine aminotransferase TM1785 performs multiple functions in the hyperthermophile <i>Thermotoga maritima</i> | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 FEBS Letters | 6. 最初と最後の頁 2931 ~ 2941 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.14222 | 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16件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 菅 創佑、齋藤 康昭、宮本 哲也、関根 正恵、片根 真澄、本間 浩、加藤 くみ子 |
| 2. 発表標題 線虫 <i>C. elegans</i> の老化過程におけるキラルアミノ酸の HPLC 分析 |
| 3. 学会等名 第 33 回 クロマトグラフィー科学会議 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 中山 穂南、西川 なつみ、田中 碧、関根 正恵、片根 真澄、宮本 哲也、齋藤 康昭、本間 浩、加藤 くみ子 |
| 2. 発表標題 モデル植物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 33 回 クロマトグラフィー科学会議 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 宮本 哲也、森屋 利幸、片根 真澄、齋藤 康昭、関根 正恵、大島 泰郎、本間 浩、加藤 くみ子 |
| 2. 発表標題 超好熱菌 <i>Thermotoga maritima</i> における D-グルタミン酸合成に寄与する新規 D-アミノ酸アミノトランスフェラーゼの同定および機能解析 |
| 3. 学会等名 第 95 回 日本生化学会大会 |
| 4. 発表年 2022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 |
| 2. 発表標題 超好熱菌 <i>Thermotoga maritima</i> の O-アセチルホモセリンスルフヒドラーゼの D-アミノ酸代謝能の解析 |
| 3. 学会等名 第 23 回 極限環境生物学年会 |
| 4. 発表年 2022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、加藤 くみ子 |
| 2. 発表標題 細胞内外で異なる機能を持つ線虫 D-アミノ酸代謝酵素 |
| 3. 学会等名 第 45 回 日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2022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 |
| 2. 発表標題 超好熱菌由来 O-アセチルホモセリンスルフヒドラーゼは複数の酵素活性を有する |
| 3. 学会等名 日本薬学会 第 143 年会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 関根 正恵、中山 穂南、西川 なつみ、片根 真澄、宮本 哲也、齋藤 康昭、本間 浩、加藤 くみ子 |
| 2. 発表標題 植物における推定 D-アミノ酸代謝酵素の機能解析 |
| 3. 学会等名 日本薬学会 第 143 年会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 齋藤 康昭、片根 真澄、宮本 哲也、関根 正恵、加藤 くみ子、本間 浩 |
| 2. 発表標題 線虫の排泄行動における D-アスパラギン酸オキシダーゼの役割 |
| 3. 学会等名 第 16 回 D-アミノ酸学会 学術講演会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 宮本 哲也、齋藤 康昭、片根 真澄、関根 正恵、本間 浩、加藤 くみ子 |
| 2. 発表標題 超好熱菌 <i>Thermotoga maritima</i> における D-アミノ酸代謝酵素の探索 |
| 3. 学会等名 第 16 回 D-アミノ酸学会 学術講演会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 宮本 哲也、齋藤 康昭、片根 真澄、関根 正恵、本間 浩、加藤 くみ子 |
| 2. 発表標題 超好熱菌 <i>Thermotoga maritima</i> における多機能型アセチルオルニチンアミノトランスフェラーゼの同定及び機能解析 |
| 3. 学会等名 第 94 回 日本生化学会大会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 大森 由紀、上窪 裕二、関根 正恵、杉谷 善信、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 兵剛 |
| 2. 発表標題 低濃度鉛曝露による離乳後の仔ラットの注意力低下と海馬中 D, L-セリンへの影響 |
| 3. 学会等名 第 92 回 日本衛生学会学術総会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 宮本 哲也、伏信 進矢、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 SHMT における新規 D-セリン分解活性の発見 |
| 3. 学会等名 第 17 回 D-アミノ酸学会 学術講演会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 関根 正恵、片根 真澄、宮本 哲也、齋藤 康昭、本間 浩、加藤 くみ子 |
| 2. 発表標題 モデル植物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 |
| 3. 学会等名 第 49 回 白金シンポジウム |
| 4. 発表年 2024年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 片根 真澄、関根 正恵、齋藤 康昭、宮本 哲也、加藤 くみ子、本間 浩 |
| 2. 発表標題 哺乳類における遊離の D-グルタミン酸の合成酵素であるグルタミン酸ラセマーゼに関する研究 |
| 3. 学会等名 第 49 回 白金シンポジウム |
| 4. 発表年 2024年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 片根 真澄、中迫 研斗、八子 奏乙、齋藤 康昭、関根 正恵、宮本 哲也、加藤 くみ子、本間 浩 |
| 2. 発表標題 グルタミン酸ラセマーゼ：遊離型 D-グルタミン酸合成酵素の酵素学的性質の解析 |
| 3. 学会等名 日本薬学会 第 144 年会 |
| 4. 発表年 2024年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 関根 正恵、田中 碧、片根 真澄、宮本 哲也、杉木 俊彦、本間 浩、加藤 くみ子 |
| 2. 発表標題 シロイヌナズナにおける推定D-アミノ酸オキシダーゼの機能解析 |
| 3. 学会等名 日本薬学会 第 144 年会 |
| 4. 発表年 2024年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|----------------------------|-----------------|
| 1. 著者名 日本ビタミン学会 | 4. 発行年 2021年 |
| 2. 出版社 朝倉書店 | 5. 総ページ数 672 |
| 3. 書名 ビタミン・バイオフィクター総合事典 | |

〔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 |
|---------|---------|
|---------|---------|