# ポリアミン Polyamine

Vol.5 No.1 Apr. 2018

巻頭言

塩川 光一郎

シリーズポリアミン研究

酒井 隆一

安元剛

シリーズ 実験手技ノート

森谷 俊介、鮫島 啓二郎

最新の研究紹介

小林 和也

村井法之

阪中 幹祥

植村 武史

最新の論文紹介

石井 友理

篠原 志桜里

第9回年会総括

藤原 伸介



# 日本ポリアミン学会

The Japanese Society of Polyamine Research

# ポリアミン Polyamine Apr. 2018

Vol. 5 No. 1

#### 巻頭言

・ 研究の思わぬ展開 塩川 光一郎 1

#### シリーズ ポリアミン研究

- ・ 海綿の長鎖ポリアミン 酒井 隆一、松永 智子
- ・ポリアミンの新たな機能:CO2吸収と石灰化促進 安元 剛, 廣瀬(安元)美奈 14

#### シリーズ 実験手技

・ ポリアミン研究に役立つ化合物の合成 (1) ポリアミン骨格の合成 森谷 俊介、鮫島 啓二郎 21

#### 最新の研究紹介

- ・ 納豆菌によるスペルミン分解とスペルミジン/スペルミンアセチルトランスフェラーゼ遺伝子発現の 関わり 小林 和也 27
- ・ 核小体におけるアンチザイム 2 を介した新規ユビキチン非依存的c-Myc分解経路 27
- ・マーカーレス遺伝子欠損によるBacteroides doreiのアルギニンデカルボキシラーゼ遺伝子speAの機能 解析 阪中 幹祥, 栗原 新
- ・スペルミン酸化酵素はアクロレインの産生により毛細胆管形成を促進する 植村 武史 28

#### 最新の論文紹介

- ・青枯病トマトの導管液のメタボロミクス-病原細菌Ralstronia solanacearumが産生するプトレッシン はトマトの青枯病を促進する 石井 友理 29
- ・植物のサーモスペルミン合成酵素の結晶構造 篠原 志桜里 29

#### 年会報告

- ·第9回年会総括 藤原 伸介 30
- ・日本ポリアミン学会第9回評議員会議事録 31
- ・日本ポリアミン学会第9回総会議事録 33

#### 事務連絡 35

役員・事務局・委員会・賛助会員 37

平成29年度企画・運営委員会 活動報告 38

編集後記 39





# 研究の思わぬ展開

# 塩川 光一郎

(帝京大学理工学部客員教授・福岡医療専門学校・アジア日本語学院)

私は東京大学の動物学教室に12年間勤務したが、最初の7年は宿舎が西千葉で、そこは快速電車が止まらない駅だった。黄色の総武線に乗ってお茶の水まで出て丸ノ内線に乗り換え、本郷3丁目まで往復4時間近くをかけての通勤だった。時々、本郷の方に行かず、富士山の「朝霧シンポジウム」以来の友人である、千葉大の五十嵐一衛先生(当時は日本ポリアミン学会自体が無く、今のように、「会長」というわけでは無かったが)のラボを訪問し、ポリアミンの話を聞きながら昼頃まで「油を売って」いた。五十嵐先生の言葉「分子生物学の教科書にDNAやRNAに分厚いページが割かれているのに、ポリアミンに関する記載の頁は少ないよね。あれを何とかしなければ」を伺って、「アフリカツメガエルの初期胚を利用したら何か新機軸が出てくるかも知れない」と思ったのが、私のポリアミン研究の始まりだった。

手始めにS-アデノシルメチオニン脱炭酸酵素(SAMDC)のクローニングをやってみた。M1の信賀順君を五十嵐研の柏木敬子先生の許に派遣したところ、首尾良くcDNAをクローニングできた。そのmRNAを合成し、アフリカツメガエル受精卵で過剰発現を試みた。SAMDC活性は確かに数百倍に跳ね上がったが、狙っていたポリアミン組成の大幅変更には至らなかった。mRNA注入受精卵の発生を夜中の2時過ぎまで観察した。が、卵は正常に卵割し、発生した。その夜は胞胚期を過ぎるあたりで、諦めて帰宅。ところが翌日には、これが全部死んでいた。院生達はこの話を聞き、大半ががっかりした。しかし、私は背中に何か「ゾーッとするもの」を感じた。「カエルの初期胚に『こんな死に方』があることが、まだ見つからずに残っていたのか」と。「何か分からないが、これまでだれも見たことの無い、珍しい現象にぶつかった!」と確信した。

「誰かこの実験を、朝まで寝ないで追試してみないか」と院生達に話したところ、M1の安彦行人君 (機動戦士ガンダムの作者安彦氏のご子息で、末尾のイラストの作者)が「私が」と申し出た。実験を繰り返したところ、夜中の3時頃、胚が胞胚後期にさしかかった時、すべての胚で、細胞が突然にばらばらに成り、真っ白になって、胚が死滅した。M2の柴田幹士君、次いでD1の甲斐理武君がその原因究明に当たった。電顕用に胚を固定し、鹿児島大眼科の私の同級生の鮫島宗文君に送った。そして最終的に、SAMDC過剰発現により基質のS-アデノシルメチオニン(SAM)が枯渇し、蛋白合成が停止し、カスパーゼ9を中心にカスパーゼ系が活性化されてアポトーシスが実行されたのだと、突き止めた。アフリカツメガエル卵の場合、12回の細胞分裂(卵割)の後にチェックが行われ、もし何らかの異常があ





るとその異常細胞を除去して発生全体を守るために、アポトーシスの「仕掛け」がフェール・セーフ機構として卵にプリ・セットされている、というのが事の真相だと思われる。

この研究の早い段階で、確かかずさDNA研究所でと思うが、私はポリアミン研究の開拓者である S. S.コーエン先生にこの話を聞いていただくチャンスを得た。先生は私の話を聞いた後、「これはポリアミン研究として面白いが、いずれ発生の細胞生物学の話になってしまって、ポリアミンからは外れていくだろうね」といわれたのを妙にはっきりと覚えている。そしてそれは、(私にとって、いささか不本意だったが)実際にその通りになった。私は2004年、ウッズホールでの第10回アフリカツメガエル国際会議の折にコーエン先生の自宅を訪問する事ができたので、九大の関口睦夫教授(コーエン先生の許に最初に留学した、私の恩師の一人)の近況をお伝えすると共に、以前に戴いた上のコメントに対するお礼を述べ、その結末についてもお話した。

実は、私達の研究とほぼ同じ頃、コロンビア大学のJ. Gautierはγ線照射実験から、コロラド大学のJ. Mallerはシクロヘキシミド処理による蛋白合成阻害実験から、それぞれ独立にアフリカツメガエル胞胚後期に突然起こる同様の細胞解離・死滅現象にぶつかり、同じ結論に到達していた。1998年のイタリア・サルジニア島での第7回アフリカツメガエル会議の時に我々は3人で話し合ったのだが、3人とも、「初めは何のことか分からず、全く面食らった」ということだった。

研究には狙った通りに仕事が展開するうれしいときもあるが、「まったく違った方向に引っ張って行かれてしまう」ような、ちょっと不本意な展開の時もある。しかし、そういう時はたいてい本当の現象を捕まえていることが多い、と思う。本学会の特に若い皆さんには、研究が思い通りに展開しても、思いとは違う方向に追いやられる(ように見える)時も、いずれの時も、楽しんで隠された真実を捕まえていただきたい。高分子の分子生物学は特異性の豊富な世界なのである意味やり易いのだろうが、分子が小さくそれだけにその作用にも多様な面があるポリアミンの世界は、独特の難しさがあると思う。五十嵐先生が言われたように、分子生物学の教科書におけるポリアミン・サイエンスの占めるスペースはまだ小さいままなので、若い人達にこれからそれを変えていって欲しいと、強く思うこの頃である。





# 海綿の長鎖ポリアミン

酒井隆一1、松永智子2

<sup>1</sup>北海道大学大学院水産科学研究院(北海道函館市港町3-1-1) <sup>2</sup>函館工業高等専門学校(北海道函館市戸倉町14-1)

> 連絡先 酒井隆一 <u>ryu.sakai@fish.hokudai.ac.jp</u> 松永智子 <u>smatsu@hakodate-ct.ac.jp</u>

#### はじめに

海洋生物は生理活性物質の宝庫と言われ、特に海綿からは多種多様な二次代謝物が見出されてきた。 我々は海洋生物の水溶性成分に着目し、生理活性物質の発見とその作用機構、そして生合成起源に興味を持って研究を行ってきた。本稿では、そのような研究の過程で出会った特殊なポリアミンともいえる長鎖ポリアミンとその周辺化合物について、現時点での成果と関連研究を中心に紹介し、海洋ポリアミン研究の展開について考えを紹介したい。

#### 海洋生物の長鎖ポリアミン

特殊ポリアミンと言えば高度好熱菌の得意分野であるが、長鎖ポリアミンとなると、現在のところ海洋生物の独壇場である。通常、プトレスシン、スペルミジン、スペルミンを総称してポリアミンと呼ぶが、これをはるかに超えてアミノプロピル基を伸長させたポリアミン群が存在する。それが、我々の遭遇した長鎖ポリアミン(Long-Chain Polyamine;LCPA)である。

海洋天然物化学における化合物との出会いは一期一会で、我々がLCPAに出会ったのは、海洋底生生物を新規生理活性物質の探索源として行ったスクリーニングに遡る。我々はまず、沖縄県西表島産の海綿Axinyssa aculeataの水溶性画分がマウスに対して強い痙攣誘発活性を示したことから、その活性本体の分離・精製を試みるところから始めた。その結果、活性本体はポリペプチドに長鎖ポリアミンが結合した化合物で、細胞の膜に作用して種々の生理活

性を発揮していること、また活性成分以外にも活性を示さない遊離の長鎖ポリアミン群が含まれることを見出したのである $^{1,2)}$ 。

我々は前者をアーキュレイン」、後者のひとつをLCPA-Aa<sup>2</sup>と命名した。ここで興味深いのは、アーキュレインの持つ生理活性が、LCPA-Aaでは見られないことである。しかし、アーキュレインの生理活性にはLCPAがカギを握る可能性がある。また、LCPA-Aaは、由来する海綿においてケイ酸質骨格構造である骨片の形成に関与している可能性が示唆される等、その機能の多様性は本家ポリアミンにも劣らない。

本稿ではこれまでの研究結果をもとに、海綿における長鎖ポリアミンのバイオミネラリゼーションへの関与について、そしてアーキュレインの構造と生理活性について紹介したい。

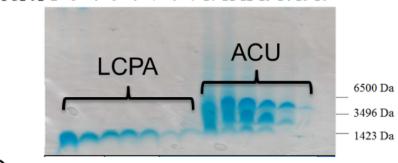


図 1. A. aculeataの水中写真



A 
$$H = N_{H_2}^{+} + N_{H_3}^{+} + \frac{n}{2} SO_4^{2-}$$
B

PU2-92-2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16



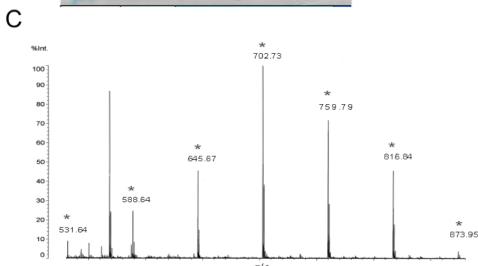


図2. LCPA-Aaの構造式(A)、海綿分画物のSDS-PAGE(B)ポリアミン画分のMALDI-TOFMS(C)

海綿の長鎖ポリアミンとシリコンバイオミネラリゼ ーション

#### LCPAの単離と構造決定

海綿A. aculeataは西表島に生息する直径5-10cm 程度の黄色い海綿である(図1)。前述のようにこ の海綿の水溶性粗抽出物をマウスに脳室内投与する と激しい痙攣の後に死亡した。この活性は、神経細 胞を何らかの機構で異常興奮させている可能性を示 唆した。

そこで、抽出物をゲル濾過クロマトグラフィーで分離し、マウスに対する毒性を示す画分をさらに逆相クロマトグラフィーで分離したところ、活性画分にはSDS-PAGE電気泳動で分子量1500-6500に、活性を示さなかった画分では分子量1000付近にバン

ドを与える興味深い化合物群が観察された(図2B)。そこで後者の $^{1}$ H NMRを測定すると $^{0}$ 3.14と2.12に3重線と多重線を、またその近傍にサテライトピークを観測した(図3)。これらの画分の質量分析を行うとm/z303-873にまたがる分子イオン群が観測され、そのイオンは57Daの分子量差を示していた(図2C)。これらの結果から、得られた化合物はプロパンアミンユニット5~15個からなる直鎖のプロパンアミンオリゴマー硫酸塩で、イオンクロマトグラフィーによる分析結果より対イオンとしてプロパンアミンユニット1当量に対し、0.5当量の硫酸イオンを持っていることが分かった。このようにして見出された一連のポリアミンをAxinyssaaculeata由来のLong Chain PolyAmine というこ



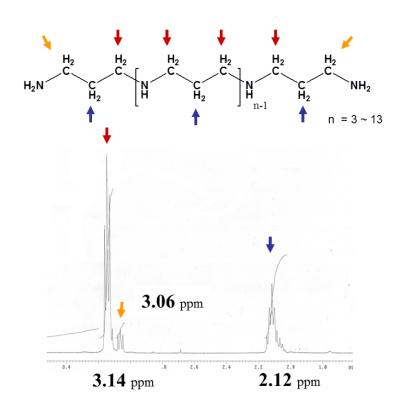


図3. LCPA-Aaの<sup>1</sup>H NMRスペクトラム

矢印は窒素に隣接するメチレン鎖(青)、中心のメチレン鎖(赤)そして両端のメチレン鎖(黄)を示す。

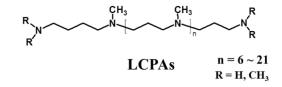
とでLCPA-Aaと称することにした<sup>2)</sup>。LCPA-Aaは極めて特異な長鎖ポリアミンといえるが、類似のポリアミンはすでに知られていた。珪藻のポリアミンである。

#### 長鎖ポリアミンとケイ酸バイオミネラリゼーション

最初に発見された天然長鎖ポリアミンは、バイオ ミネラリゼーション因子として珪藻細胞壁より抽出 されたN-メチル型のLCPAである3)(図4)。珪藻は溶 存ケイ素を利用する生物の代表格で、水中のケイ酸 を取り込み見事な幾何学的造形を持つ外骨格の形成 に利用する。このバイオミネラリゼーションの初期 過程では制御されたケイ酸の重合による沈着が伴う が、その制御、すなわち一定の粒径を持ったシリカ ナノ粒子の形成に関与しているのが高度にリン酸化 されたシラフィン (Silaffin) と呼ばれる複数のペ プチドとLCPAと考えられている(図4)。これらの化 合物は、珪藻被殻をフッ酸で溶解して抽出されたも のであるが、多価陰イオンを有するシラフィンと LCPAの複合体が、珪藻被殻のバイオミネラリゼー ションにおいて中心的な役割を担うと考えられてい る。またLCPAの長さやメチル化のパターンは種に

よって異なり、これが珪藻の殻の造形の種差に関係 しているのではないかと考察されている<sup>3)</sup>。

他方、海綿は最も原始的な動物とされ、骨片と呼ばれるケイ酸質骨格を持つことから、珪藻と並んでケイ素のバイオミネラリゼーションを行う生物として知られている。実際に「トゲトゲした」という意味の学名をもつA. aculeataには多量の骨片が含ま



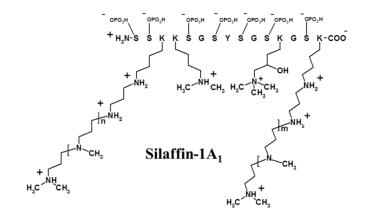


図4. 珪藻由来の代表的LCPAの構造とシラフィン (Silaffin-1A<sub>1</sub>) の構造



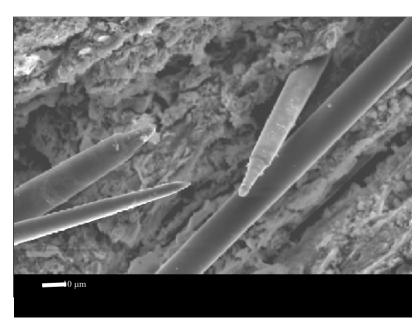


図5. A. aculeata組織の走査型電子顕微鏡写真 多数のシリカ骨片が存在する。

れる(図5)。これまでの研究で、海綿のケイ酸質骨格、すなわち骨片の形成には、プロテアーゼであるカテプシンに類似する、シリカテインと呼ばれるタンパク質が関与していると考えられていた4)。しかし、LCPAが海綿から見出されたことで我々は、珪藻とは全く異なる生物種である海綿でも、珪藻と同

様のバイオミネラリゼーション機構があるのではないかと考えた。そこで作業仮説としたのが、LCPA-Aaにもケイ酸沈着能があり、さらにLCPA-Aaは骨片中にも存在する、というものである。

この作業仮説を検証するためにまずpH 6.5の弱酸性条件下でLCPA-Aaにケイ酸溶液を加えたところ、LCPA-Aa非存在下では確認されない白色沈殿が生じ、LCPA-Aaのケイ酸重合促進能が確認された。ここで生じた白色沈殿を蒸留水で洗浄し、走査型電子顕微鏡下で観察すると、粒径の揃ったシリカ球が形成されていることが確認された。

次に、LCPA-Aaのプロパンアミンユニット1つに対し硫酸イオンが0.48、0.36、0.18および0となるように調整した溶液で、再度ケイ酸沈着試験をおこなった(図6)。0.48および0.36としたものでは50~200 nmの粒径を持つシリカが形成されていた。また、これらの粒径はアイゼンバーグらが報告した骨片を形成するシリカ球の粒径にもほぼ一致するものであった(図6e)5)。LCPA-Aaには硫酸イオンが約0.5

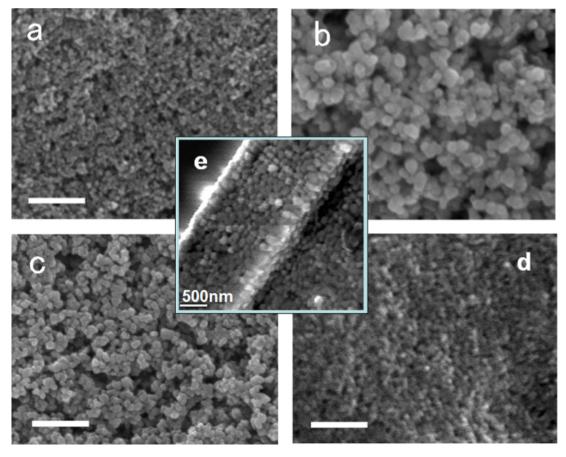
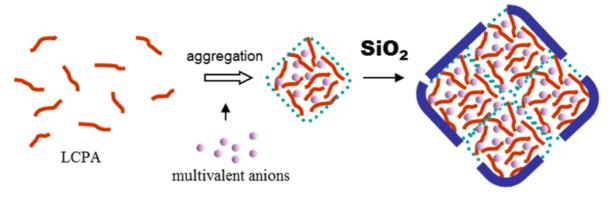


図6. 硫酸イオン含有比の異なるLCPA-Aaを用いたシリカ沈着実験

プロパンアミン1ユニットに対する硫酸イオン比が0.53(a),0.48(b)、0.36(c)、0.18(d)としたとき生じたシリカ粒子のおよび海綿骨片(e)の走査型電子顕微鏡写真。文献1b,4より許可転載





Silica deposition

#### 図7. LCPAと多価陰イオン複合体による溶存シリカの沈着機構の推定図

当量含まれるので、この結果から、LCPA-Aaは硫酸イオンと複合体を作ることで多量化し、最適な比率で得られた複合体を足場にケイ酸の沈着が起こり骨片形成に適した粒径のシリカを形成することが示唆された(図7)  $^{2}$ 。

次に骨片をフッ酸で溶解して含まれる有機物を分析した。その結果、海綿のバイオミネラリゼーション因子として知られているシリカテインと高い相同性を有するタンパク質に加え、LCPA-Aaが検出された<sup>2)</sup>。これらの結果は、LCPA-Aaは外部からの多価イオンの供給なしに自家硫酸イオンの変化のみでシリカ沈殿形状を制御できること、さらに本種においてはLCPAが骨片形成に関与している可能性を示唆するものである。しかし、LCPAを多量に含む海綿は我々の研究ではAxynissa属をはじめとする一部の海綿のみであった。したがって、LCPAが関与した海綿バイオミネラリゼーションは当初期待したように海綿に普遍的なものであるという確証は得られていない。

### アーキュレイン(Aculeine) アーキュレイン(ACU)の単離と構造:

アーキュレインは長鎖ポリアミンが45残基のポリペプチドのN-末端のトリプトファン残基がLCPAで翻訳後修飾された極めて特異な構造を有している(図8)<sup>1)</sup>。

このような「前例のない」化合物は物性においても特異で、研究の当初試みたカラムは唯一ゲル濾過のみが有効で、決め手となるはずの逆相HPLCでは

全く化合物が溶出しなかった。しかし、細孔300Åの逆相シリカゲルを用いることで、ACU-A、-B、-Cを精製することに成功した。飛行時間型の質量分析の結果、ACU-A、-Bはそれぞれ分子量が6500、5700を中心とするポリアミン長の異なるホモログの混合物、ACU-Cは分子量2800程度の類縁体の複雑な混合物として単離されたことが分かった(図9)。

ACUはNMRでは複雑でブロードなピークを与えたが、ペプチドのアミドプロトンやポリアミンの繰り返し構造に由来する吸収が見られたことから、構造中にポリアミンを持つことが推定された。そこでACUを加水分解するとLCPAが得られ、これが証明された。これらの結果から、ACUは分子内に長鎖ポリアミンを持つ極めて特異な構造をもったペプチドであると推定した。幸いにも、海綿の遺伝子からアーキュレインのポリペプチド部に相当するアミノ酸演繹配列を得ることに成功し、それを参考に酵素

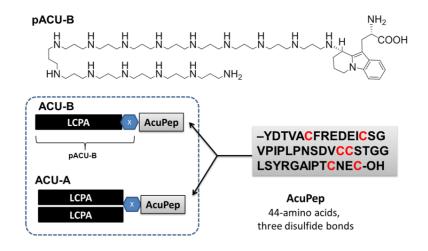


図8. pACU-B、ACU-Bの構造およびACU-Aの推定模式 構造



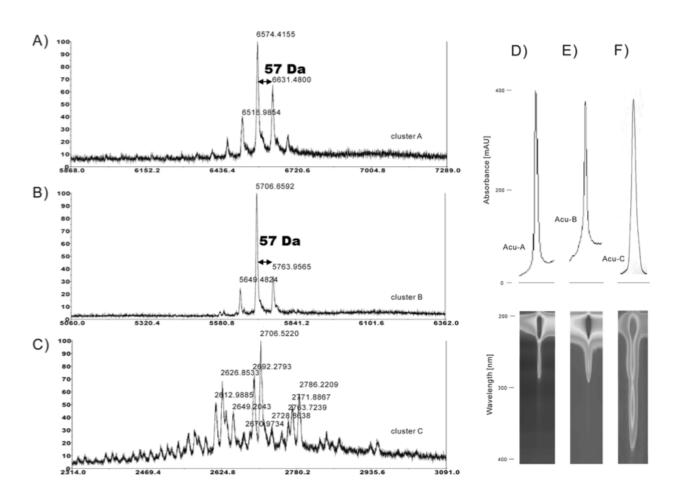


図9. ACU-A(A、D),ACU-B, (B、E)、ACU-C(C、F)のMALDI-TOFマススペクトルおよびHPLC-PDAクロマトグラム

分解と質量分析を併用した手法で全アミノ酸配列を確認した $^{1}$ 。アーキュレインのポリペプチド部44残基(AcuPep)中には、6つのシステイン残基が見られたが、その配置からAcuPepにはシステインノットと呼ばれるイモガイ毒のコノトキシンや海綿由来の生理活性ペプチドアステロピン等広く生理活性ペプチドに見られるモチーフを持つものと考えられた $^{1}$ (図10)。

遺伝子解析ではコードされたアミノ酸は45残基であり、N-末端はトリプトファンであることが示されたにもかかわらず、エドマン分解では1残基目のシグナルは観察されなかった。この結果はアーキ

ュレインのN-末端のトリプトファンがポリアミンで 修飾されている可能性を示唆した<sup>1)</sup>。

しかしNMRなどの解析法で、アーキュレインのN-末端残基の構造を決定することは困難であった。ところが、近年の質量分析の急速な発展に伴い分子量6000を超える化合物の精密質量が得られるようになると、構造研究は一気に進展した (図11)。

さらに、ACU分離の際にN-末端アミノ酸と同じ 分子式を持つ新規アミノ酸が遊離の状態で含まれる ことを見出し、その精密構造決定が可能となった。 プロトアーキュレインB(pAcuB)と命名したそのア

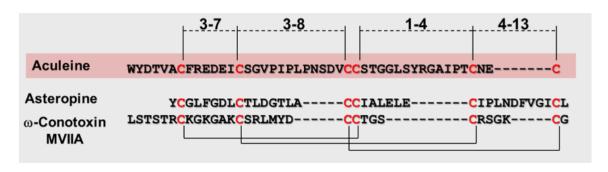
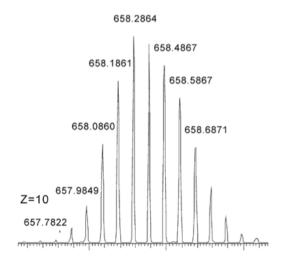


図10. ACU, アステロピン、コノトキシンのアミノ酸配列の比較。



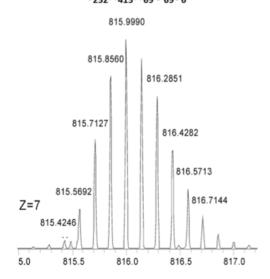
#### ACU-A

#### 6569.7931 (∆ 2.9 mmu) C<sub>298</sub>H<sub>518</sub>N<sub>84</sub>O<sub>69</sub>S<sub>6</sub>



#### ACU-B

#### 5701.9254(∆ 1.1 mmu) C<sub>252</sub>H<sub>413</sub>N<sub>69</sub>O<sub>69</sub>S<sub>6</sub>



#### 図11. ACU-AおよびACU-BのOrbitrap-ESI質量スペクトル

ミノ酸は、トリプトファンがLCPAで修飾されたこれまでにない化合物であった(図8)<sup>6)</sup>。これらの結果から、ACU-Bの構造をpAcu-B—AcuPepであると推定した(図8)。ACU-AはpACU-Bにさらにもう一つのLCPAが結合したもの、またACU-CはACU-Aと同一のN-末端アミノ酸に小さな修飾型ペプチドが結合したものと推定している。精密質量分析の結果からACU-A、-B共に3つのジスルフィド結合を持つことが示されたが、ジスルフィド結合の組み合わせを含む詳細な構造決定の研究は現在進行中である。

#### アーキュレイン (ACU) の生理活性:

アーキュレインは、海綿の抽出物に観察されたマウスに対する毒性の活性本体として得られ、ACU-A、-B、-C共に1 μgの投与量(脳室内投与)でマウスに痙攣致死活性を示した。この活性の機構を調べるためにまず、興奮性神経伝達に関与しているイオンチャンネル型グルタミン酸受容体に対する作用を調べたが受容体への親和性は認められなかった。また培養がん細胞に対する細胞毒性は4 μg/mLであり、一方で培養神経細胞を用いた電気生理実験でACU-Aは膜を破壊することで脱分極を引き起こ

し、ひいては細胞死に至らしめることが示された。加えて、ACU-Aは細胞外のカルシウムイオンの流入を引き起こすことが確認された $^{1)}$ 。これらの結果からACUは生体膜に作用する分子であり、神経細胞膜を破壊することでマウスに痙攣を引き起こしたものと推測された。そこで次にACU-Aの溶血性を調べたところ、予想通り強い溶血作用を示し、EC $_{50}$ は $^{7.9}$   $_{\mu}$ MとコントロールのSDSの $^{8.2}$   $_{\mu}$ Mとりも低濃度であった。しかし、不思議なことにその活性は $^{80}$ %程度でとどまっていた(図 $^{12}$ )。

強い溶血性を示すペプチドとして抗微生物ペプチド (antimicrobial peptide, AMP) と呼ばれる化

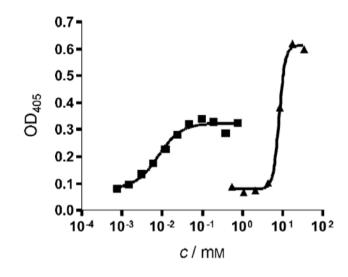
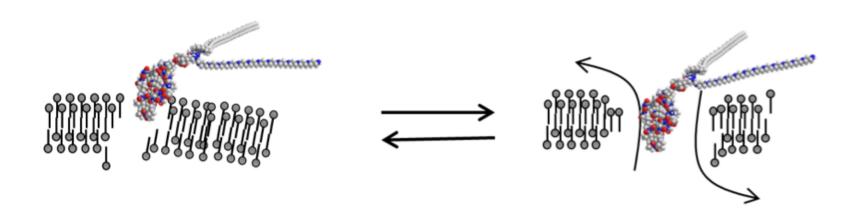


図12 ACU-A(■)およびSDS(▲)の溶血作用





#### 図13. ACU-Aの生体膜との相互作用のモデル図

ACU-Aのポリアミンと生体膜の陰電荷と相互作用で可逆的に膜に結合し、ペプチド部の作用で膜の安定性を損なわせる

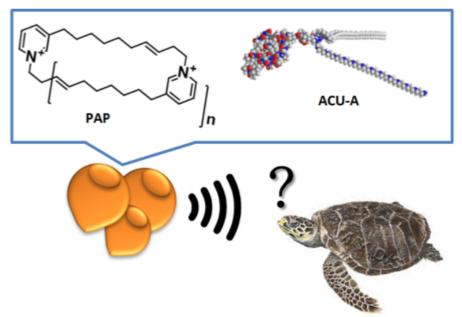
合物群が存在するが、それらの多くは塩基性アミノ 酸により細胞表面の陰イオン性官能基と静電的に相 互作用し、それを足掛かりに細胞膜構成リン脂質と の結合を介して膜を破壊するとされている7)。ACU-Aはその構造から陰イオン種との相互作用が推測さ れるので、フォスファチジルグリセロール(PG)やフ ォスファチジルセリン(PS)などの酸性リン脂質との 相互作用もしくは硫酸化多糖、シアル酸等様々な細 胞表面の陰イオン種と相互作用することで膜破壊を 引き起こしていると想定される。しかし、ACU-A はバクテリアに対してほとんど活性を示さなかった こと、さらに、AMPの一種であるハチ毒のメリチ ンが強い活性を示すフォスファチジルコリンを含む リン脂質(1-palmitoyl-2-oleoylphosphatidylcholine、POPC)のリポソームを用いた実験で膜破 壊が確認されなかったことから、ACU-AはAMPと は異なった機構で溶血作用を示すものと思われる。 スミレ科などの植物の毒として見いだされたペプチ ドCvclotideはアミノ酸28-37個からなる環状ペプ チドで、システインノット構造を持つ。興味深いこ とに代表的なCyclotideであるKalataB1には強い溶 血性があり、その活性はフォスファチジルエタノー ルアミン(PE)依存的で、さらにACU-A同様アッセイ 直後は70%の溶血作用しか示さない8)。このような 挙動を示す溶血毒は筆者の知る限りKalataB1と ACU-Aのみである。KalataB1は細胞表面との疎水 性相互作用で結合後に分子集合体を形成し、膜に孔 形成するモデルが提唱されているが、その溶血機構 の全容は不明である<sup>9,10)</sup>。ACU-Aはポリアミンと

細胞表面との静電気的相互作用で細胞膜に結合し、ペプチド部の作用で膜の安定性に影響を及ぼしている可能性が高いが<sup>11)</sup>、集合体を形成するか否か、どのような陰イオン種と相互作用を持つのかなどの詳細については不明である。また、ACUの活性が完全に膜を破壊するものではないことから、可逆的な機構が想定できる(図13)。現在これらの解明を目指して研究を進めている。

#### 海綿のポリカチオン

海綿には多種多様な二次代謝物が知られており、 それらの中には強力な生理活性を示すものも多い。 しかし二次代謝物の起源や機能には不明な点が多 く、海洋天然物化学の大きな研究課題となってい る。それでは、A. aculeataがなぜACU-Aのような 化合物を持っているのか?この問いに迫るためには ACU-Aの生理活性や機能と生合成的起源を探る必 要がある。A. aculeata の組織切片には海綿の細胞 に加え多数のバクテリアが観察された。一般に海綿 はバクテリアと共生し、海綿の持つ二次代謝物はバ クテリアの産物であると考えられている。しかし、 AcuPepの遺伝子はpolyA配列を持つ真核生物型で あったためAcu-Aを作っているのは海綿自身である ことが強く示唆された。海綿に含まれる二次代謝物 で、このように海綿自身が生合成していることが示 されたものは少ない。LCPA-Aaは骨片形成に関与 する可能性が示唆されたが、ACUについては、シ リカの沈着は見られたもののLCPA-Aaのようなナノ 粒子生成能は認められず、ACUの機能は骨片形成以





#### 図14. 海綿のポリカチオン化合物

外にある可能性が高い。興味深いことに、構造は全 く異なるもののACU同様もしくはそれ以上の分子 量を持つポリカチオン化合物が存在する。ポリアル キルピリジンニウム(PAP)である(図14)。PAPは Haliclona属の海綿から見出されており、環状の重 合体であると考えられているが、その構造は2量体 から分子量15000に及ぶポリマーまで多様である (図14) 12, 13)。PAPは非常に水溶性の高い分子で あり、ACU同様溶血作用を示す。高分子のPAPは細 胞膜に孔を形成し破壊することが示唆されており、 ACUとよく似た機能を持つことが推し量られる。 PAPの孔形成能に着目し、PAPがデリバリー分子と して遺伝子などを細胞内に運び込むかを調べた興味 深い研究があるが、その結果PAPを用いてGFP遺伝 子を細胞内で発現させることに成功している14)。 ACUやPAPのような水溶性ポリカチオンはその両 親媒性により作用を発揮していることから、筆者は これらがいわゆる「逆性石鹸」のような働きをして いる可能性を考えている。海洋環境においてこのよ うな働きにどのような意義があるのか?最大の機能 はおそらく捕食者の摂食を逃れることであろう。二 次代謝物に富む海綿を捕食する動物などいるのか? と考えがちだが海綿はウミウシなど「わざわざ海綿 を食べる」スペシャリストに捕食されるほか、タイ マイというウミガメの大好物でもある。海綿は逆性 石鹸のような物性を持つ苦い物質を蓄えたり放出し

たりすることで、「食べてもおいしくないぞ」と訴えているのかもしれない。

#### 海産ポリアミン研究の課題

今回我々は、長鎖ポリアミンを海綿から見出し、 そのケイ素バイオミネラリゼーションに着目した機 能解析を行った。また同海綿から長鎖ポリアミンを 含む生理活性ペプチドが発見された。これらの結果 はポリアミンの「長さ」にもその機能を決定する秘 密が隠れていることを示唆する。ケイ藻にLCPAが 含まれていることが分かってから20年以上経つが その生合成については全く解明されていない。海綿 においてもその生合成経路は未解明である。珪藻や 海綿においても「通常の」ポリアミン同様の生合成 経路を経てLCPAが作られるのであろうか?ポリア ミンの鎖の伸長はどのように制御されているのだろ うか?興味は尽きない。また今回の研究では長鎖ポ リアミンで翻訳後修飾されたペプチドACUを見出 したが、その活性はLCPAが細胞膜表面の分子と相 互作用することで発揮される可能性が見出された。 ACUのようにポリアミンがペプチドの翻訳後修飾 を行うことを見出したのは珪藻外骨格から得られた シラフィンに次ぐものである。これらの結果から、 生物界にはまだポリアミンで修飾されたタンパク質 が存在することが期待される。これらの修飾に関わ る酵素に関しても全く未解明であり、研究のさらな



る展開が期待される分野であろう。

今回の研究は無機物、そして細胞表面とACUのポリアミンを介した相互作用という「課題」を与えてくれた。特に、LCPAの持つポリカチオン性はPAP同様細胞膜透過に寄与している可能性が高い。細胞膜は言うまでもなく細胞とその外環境を分けるもので、自然拡散で脂質二重膜を透過できる物性を持った化合物以外はトランスポータやエンドサートーシスを介した機構で侵入することになる。現在、リポフェクタミンTMや細胞透過ペプチド(CPP)と呼ばれる両親媒性ポリカチオン性物質が細胞内への物質導入に利用されている<sup>15,16)</sup>。我々は、ACU-Aが天然のCPPなのではないかと考えており、この細胞透過機構を立証しメカニズムを解明することでこれまでにない薬物送達分子の創製につながることを期待している。

#### 謝辞

本研究は科研費(基盤B 15H04546)、および内藤財団助成金により遂行された。

#### 参考文献

- 1) Matsunaga S, Jimbo M, Gill MB, Wyhe LL, Murata M, Nonomura K, Swanson GT, and Sakai R: Isolation, amino acid sequence and biological activities of novel long-chain polyamine-associated peptide toxins from the sponge *Axinyssa aculeata*. Chembiochem, 12:2191-2200 (2011).
- 2) Matsunaga S, Sakai R, Jimbo M, and Kamiya H: Long-chain polyamines (LCPAs) from marine sponge: possible implication in spicule formation. Chembiochem, 8:1729-1735 (2007).
- 3) Kröger N, Deutzmann R, Bergsdorf C, and Sumper M: Species-specific polyamines from diatoms control silica morphology. Proc. Nat. Acad. Sci, 97:14133-14138 (2000).
- 4) Shimizu K, Cha J, Stucky GD, and Morse DE: Silicatein  $\alpha$ : cathepsin L-like protein in

- sponge biosilica. Proc. Nat. Acad. Sci, 95:6234-6238 (1998).
- 5) Aizenberg J, Weaver JC, Thanawala MS, Sundar VC, Morse DE, and Fratzl P: Skeleton of Euplectella sp.: structural hierarchy from the nanoscale to the macroscale. Science, 309:275-278 (2005).
- 6) Matsunaga S, Kishi R, Otsuka K, Fujita MJ, Oikawa M, and Sakai R: Protoaculeine B, a Putative N-Terminal Residue for the Novel Peptide Toxin Aculeines. Org. lett., 16:3090-3093 (2014).
- 7) Park Y-K, and Hahm K-S: Antimicrobial peptides (AMPs): peptide structure and mode of action. BMB Reports, 38:507-516 (2005).
- 8) Sando L, Troeira Henriques S, Foley F, Simonsen SM, Daly NL, Hall KN, Gustafson KR, Aguilar Ml, and Craik DJ: A synthetic mirror image of kalata B1 reveals that cyclotide activity is independent of a protein receptor. ChemBioChem, 12:2456-2462 (2011).
- 9) Henriques ST, Huang Y-H, Rosengren KJ, Franquelim HG, Carvalho FA, Johnson A, Sonza S, Tachedjian G, Castanho MA, and Daly NL: Decoding the membrane activity of the cyclotide kalata B1 the importance of phosphatidylethanolamine phospholipids and lipid organization on hemolytic and anti-HIV activities. J. Biol. Chem., 286:24231-24241 (2011).
- 10) Nawae W, Hannongbua S, and Ruengjitchatchawalya M: Dynamic scenario of membrane binding process of kalata b1. PloS one, 9:e114473 (2014).
- 11) Gräb O, Abacilar M, Daus F, Geyer A, and Steinem C: 3D-Membrane stacks on supported membranes composed of diatom lipids induced by long-chain polyamines. Langmuir, 32:10144-10152 (2016).
- 12) Schmitz FJ, Hollenbeak KH, and Campbell DC: Marine natural products: halitoxin, toxic complex of several marine sponges of the



- genus *Haliclona*. J. Org. Chem., 43:3916-3922 (1978).
- 13) Turk T, Frangež R, and Sepčić K: Mechanisms of toxicity of 3-alkylpyridinium polymers from marine sponge *Reniera sarai*. Mar. Drugs, 5:157-167 (2007).
- 14) Tucker SJ, McClelland D, Jaspars M, Sepčić K, MacEwan DJ, and Scott RH: The influence of alkyl pyridinium sponge toxins on membrane properties, cytotoxicity, transfection and protein expression in mammalian cells. Biochim. Biophys. Acta-Biomembr., 1614:171-181 (2003).
- 15) Takeuchi T, and Futaki S: Current understanding of direct translocation of arginine-rich cell-penetrating peptides and its internalization mechanisms. Chem. Pharm. Bull., 64:1431-1437 (2016).
- 16) Futaki S: Oligoarginine vectors for intracellular delivery: Design and cellular-uptake mechanisms. Peptide Sci., 84:241-249 (2006).



# ポリアミンの新たな機能:CO2吸収と石灰化促進

安元 剛1, 廣瀬(安元)美奈2

1北里大学海洋生命科学部応用生物化学講座資源化学研究室 (〒252-0373 神奈川県相模原市南区北里1-15-1)

2一般社団法人トロピカルテクノプラス

(〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎12-75)

連絡先 安元 剛, e-mail: <u>yasumoto@kitasato-u.ac.jp</u>

#### 1. はじめに

ポリアミンは様々な生理機能を有することが報告されている。著者らはポリアミンが二酸化炭素(CO<sub>2</sub>)と高い親和性を持ち石灰化反応(CaCO<sub>3</sub>形成反応)を促進するという新たな化学的性質を見出した<sup>1)</sup>ので、共著者を代表してご紹介したい。

#### 2. 海は巨大なCO<sub>2</sub>貯蔵庫

海水にはカルシウム(Ca)が多く含まれており、 貝やサンゴなどはこのCaを利用して炭酸カルシウム(CaCO3)の骨格を作る。この海洋生物が作ったCaCO3は長い年月をかけて石灰岩などの炭酸塩堆積物となり、一部は地上に存在しているが、大部分は海底に堆積している。その総量は大気中にあるCO2の約3万倍にも達する膨大な量である<sup>2)</sup>。 CaCO<sub>3</sub>の中にはCO<sub>2</sub>が閉じ込められており、炭酸塩堆積物は巨大なCO<sub>2</sub>貯蔵庫と言い換えることが出来る。原始地球の大気CO<sub>2</sub>は30気圧下で97%に達したと見積もられており $^{3-4}$ 、現在の1気圧下で0.04%まで大きく減少している。炭酸塩堆積物が地上の全炭素の約40%を占めることから考えても、大気CO<sub>2</sub>の減少に海洋生物によるCaCO<sub>3</sub>形成が大きく寄与していることは明らかである $^{2}$ )。しかし、海洋生物のCaCO<sub>3</sub>形成反応の基質を、海水中に存在量が多いHCO<sub>3</sub>-と仮定すると、CaCO<sub>3</sub>形成に伴いH+が生じ(Ca<sup>2+</sup>+HCO<sub>3</sub>-→CaCO<sub>3</sub>+H+)、海水中の炭酸平衡を酸性側に傾けCO<sub>2</sub>が発生する(HCO<sub>3</sub>-+H+二H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>二CO<sub>2</sub>+H<sub>2</sub>O)という見方も存在するり、つまり、海洋生物の石灰化はCO<sub>2</sub>の放出源となり、CO<sub>2</sub>を減少させてきた炭酸塩堆積物の役割をう

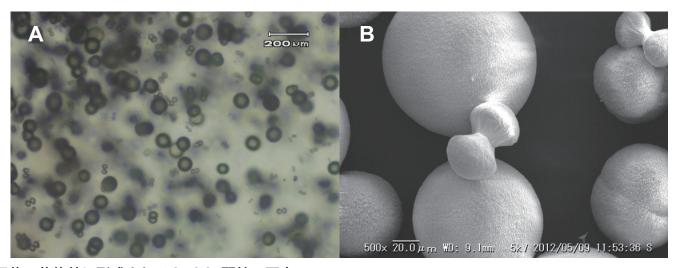
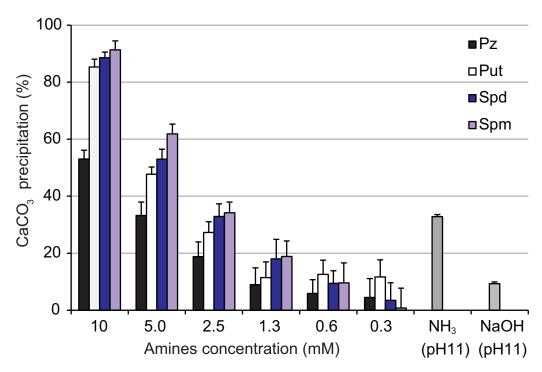


図1. 海洋細菌の菌体外に形成されるCaCO3顆粒の写真

(A) 海洋細菌を培養した寒天培地に形成されたCaCO₃顆粒。(B) 海洋細菌のCaCO₃結晶のSEM像。スケールバーは(A)で 200 μm、(B)で20 μm。





#### 図2. ポリアミンの石灰化促進能

10 mM CaCl<sub>2</sub>溶液にポリアミン(putrescine: Put, spermidine: Spd, spermine: Spm)とpiperazine (Pz)を0.3~10 mM添加し、室温で12時間静置して生じたCaCO<sub>3</sub>結晶量の比較。NaOHまたはNH<sub>3</sub>はpH 11に調整した10 mM CaCl<sub>2</sub>溶液との比較も行った。CaCO<sub>3</sub>結晶量は上清に残ったCa<sup>2+</sup>をICP-MSで測定して算出した(means ± SE, n=3)。

まく説明出来ない。この矛盾を解消し、地球の炭素 循環をより正確に理解するためには海洋生物の石灰 化機構の解明が不可欠である。海洋生物のCaCO3 形成に関する研究は骨格中の有機基質に着目して行 われてきており、酸性基を多く有するタンパク質や 多糖などの高分子化合物が単離、構造解析されてき た。しかし、これらの酸性高分子間に配列上の関連 性は見出されておらず、生物種をまたぐような CaCO<sub>3</sub>形成機構は未だ提案されていない<sup>6)</sup>。また、 海洋生物に限らず、生体内のCO2輸送機構は多くの 部分が未解明で、海洋生物の石灰化反応がCO2のシ ンクかソースかといった論争の結論を出す十分な証 拠は得られていない。これらの背景から、より普遍 的なCaCO3形成機構の解明を目的とし、Ca<sup>2+</sup>を含 む培地上で菌体外にCaCO<sub>3</sub>顆粒形成を行う海洋細 菌に着目した(図1)。

#### 3. CaCO<sub>3</sub>形成能を有する海洋細菌

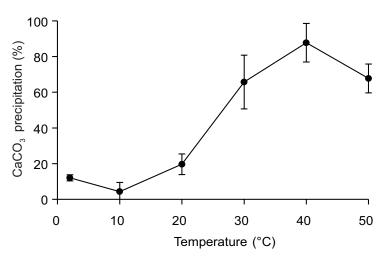
海洋細菌によるCaCO<sub>3</sub>形成は、硫酸塩還元菌,尿素分解菌および光合成細菌などの特定の菌種が有する代謝機構によって説明される場合が多い<sup>2)</sup>。そこで、深海熱水噴出孔付近の環境及び熱帯域の生物よ

り海洋細菌を単離し、16S rRNA系統解析を行うとともにCaCO3形成能を調べた。その結果、αおよびγプロテオバクテリア、バチルスまたは放線菌といった広範な菌種でCaCO3形成を確認できた。つまり、海洋細菌のCaCO3形成には、より普遍的な代謝機構が関与していると示唆される。培養条件によるCaCO3形成能の変化について検討した結果、空気と接触するような条件でCaCO3形成が顕著に促進されることが明らかになった。すなわち、海洋細菌のCaCO3顆粒の炭素源は、呼吸や代謝によって生じる無機炭素が主ではなく、空気中のCO2の寄与も大きいことが示された。以上の結果から、海洋細菌の代謝物として普遍的に存在し、CO2と親和性の高い化合物がCaCO3顆粒形成に関与していると推定した。

#### 4. ポリアミンを用いたCaCO3形成反応

火力発電所などの施設では、高濃度CO<sub>2</sub>を含む排気ガスをアルカノールアミン溶液に通しCO<sub>2</sub>を回収している。この合成アミンを用いたCO<sub>2</sub>回収技術は、1930年代には天然ガスや水素ガスからCO<sub>2</sub>を取り除くために利用が開始されている<sup>7)</sup>。地球温暖





#### 図3. Piperazineによる石灰化反応と温度の関係

10 mM CaCl<sub>2</sub>溶液に10 mM piperazineを添加し、1時間後に生じたCaCO<sub>3</sub>結晶量と温度の関係を調べた(means  $\pm$  SE, n=3)。10°C以下ではCaCO<sub>3</sub>結晶形成は起こりにくく、40°Cで最も速かった。

化と人為的な $CO_2$ 排出との関連が指摘されて以降は、より効果的で耐久性の高い合成アミンの探索研究も活発に行われている $^{8)}$ 。我々は、海洋細菌の代謝物として最も普遍的に存在する生体アミンであるポリアミンに着目した。ご周知の通り、ポリアミンには細胞増殖因子など様々な生理機能が報告されているが、 $CO_2$ との反応性と $CaCO_3$ 形成への関与を指摘した報告はない。そこで、10 mM  $CaCl_2$ 溶液に、putrescine (Put)、spermidine (Spd)、spermine (Spm) およびpiperazine (Pz) を0.3~10 mMとなるようそれぞれ添加し、室温で12時間

静置したところ、10 mM添加した際には、多量の CaCO3結晶が生じ、溶液中のCa<sup>2+</sup>が90%以上減少 した(図2)。この反応液には炭酸源は添加してい ないため、生じたCaCO3の炭素源は空気中のCO2 である。また、ポリアミンの塩基性とCaCO3形成 の関係を調べるため、10 mM CaCl<sub>2</sub>溶液をポリア ミン溶液と同等のpH 11に、NaOHまたはNH3を用 いて調整し、CaCO3形成量を比較した。NaOHを 用いて調整したCaCl2溶液からはCaCO3はほとんど 生じなかった。NH3で調整したCaCl2溶液からは僅 かにCaCO3結晶が見られたが、ポリアミンによる 石灰化反応は反応液が塩基性になるために起こるも のではないことが明らかになった(図2)。また、 ポリアミンによるCaCO3形成反応は、10°C以下で はほとんど沈殿が生じず、40°C付近で沈殿量が多 かった(図3)。このことは、炭酸塩堆積物が熱 帯・亜熱帯地域に多く分布することやサンゴなどの 大きなCaCO3骨格を有する海洋生物も熱帯域に多 く生息することと関係しているかもしれない。

#### 5. 海洋細菌のCaCO3顆粒の再現

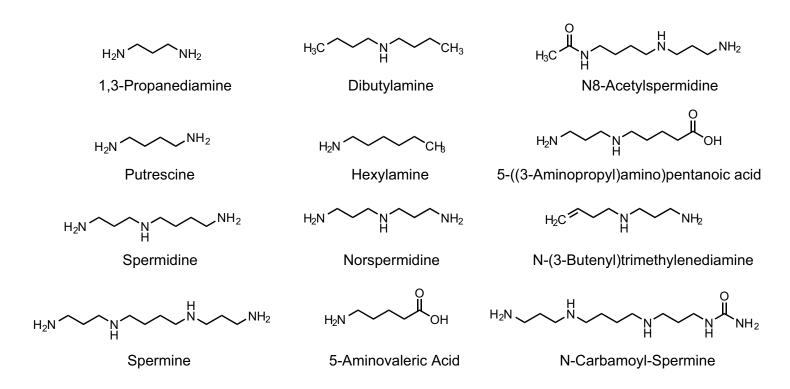
CaCO<sub>3</sub>結晶形は主にCaにOが6配位している calciteと、Oが9配位しているaragoniteとが存在し、常温常圧下ではcalciteが安定とされている。しかし、海水中のように高濃度のMg<sup>2+</sup>が存在する環境ではaragoniteがより安定である<sup>3)</sup>。海洋細菌の培



図4. 培地成分がCaCO3結晶形状と結晶形に及ぼす影響

10 mM CaCl<sub>2</sub>と32 mM MgCl<sub>2</sub>含む水溶液に培地成分とポリアミンを添加し、24穴プレートで3日間静置して生じた結晶の SEM像。結晶系はFT-IRを用いて調べた。(A)Aragonite 結晶: 10 mM CaCl<sub>2</sub>と32 mM MgCl<sub>2</sub>含む水溶液にpiperazineを添加した場合(control solution)。Mg<sup>2</sup>+が多く存在するためaragoniteが優先して生じる。(B)Calcite結晶: Sodium citrate を0.25 mM になるようにcontrol solutionに添加した場合。(C)Calcite結晶: Peptoneを0.6 g/L になるようにcontrol solutionに添加した場合。スケールバーは(A)と(C)が10 μm、(B)が5 μm。

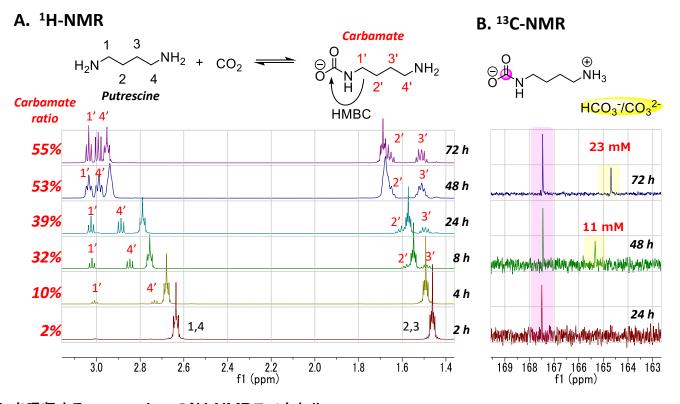




#### 図5. LC/QTOFMSによって検出された海洋細菌培養液のポリアミン関連物質

地上に生じる $CaCO_3$ 結晶はダンベル状や球状といった特徴的な形状をしており(図1)、FT-IRを用いて解析したところ結晶形はCalciteであった。そこで、海水程度の $Ca^{2+}$ 、 $CaCO_3$ は高に及ぼす影響を検証した。その結果、 $Ca^{2+}$ キレート

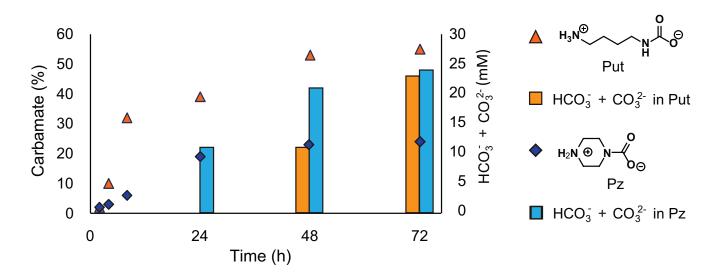
能を有するcitrateおよびpeptoneといった培地成分を添加した際に、海洋細菌の培地上に形成されるCaCO3に類似したcalciteが形成された(図4)。どちらの成分も高濃度においてはCaCO3結晶形成を強く阻害した。元々培地に含まれるpeptoneの濃度ではCaCO3形成は起こらず、海洋細菌の代謝により



#### 図6. 大気CO2を吸収するputrescine の<sup>1</sup>H-NMRスペクトル

50 mM putrescine 重水溶液を蓋付きの24穴プレート内で72時間室温で静置し、時間毎にNMRチューブに移し、内部標準の1,4-dioxianeを添加し<sup>1</sup>H-NMR(A) および<sup>13</sup>C-NMR(B) を測定した。





#### 図 7. Putrescineとpiperazineが大気CO2を吸収して生じたcarbamate誘導体とHCO3- + CO32-の推移

50 mM putrescine (Put) およびpiperazine (Pz) の重水溶液を蓋付きの24穴プレート内で、72時間室温で静置した。時間毎にNMRチューブに移し、定量の内部標準の1,4-dioxianeを添加後、NMR(600 MHz)を測定し、carbamate誘導体の割合と $HCO_{3}$  +  $CO_{3}$ 2-濃度を算出した。

その濃度が減少した後、海洋細菌が産生したポリアミンが炭酸イオン( $CO_3^{2-}$ )濃度を上昇させ、培地成分であるcitrateやpeptoneの影響を受けて、calcite結晶が生じると推定できる。実際に、CaCO $_3$ 形成能を有する菌培養液をLC/QTOF型質量分析装置(SCIEX)で分析した結果、代表的なポリアミンと共に多くのポリアミン誘導体を検出することに成功した(図5)。

#### 6. NMRを用いたポリアミンのCO2吸収機構の解明

ポリアミンが $CO_2$ を水溶液中にどのように吸収するかを、NMRを用いて解析した。50~mM putrescineまたはpiperazine(環状ジアミン)の重

$$H_{2}N \longrightarrow NH_{2} + CO_{2} \longrightarrow \bigoplus_{O} \bigoplus_{N} \bigoplus_{NH_{3}} \bigoplus_{H_{2}N} \bigoplus_{NH_{3}} + HCO_{3}^{-}$$

$$H_{2}N \longrightarrow NH_{3} + HCO_{3}^{-} \longrightarrow \bigoplus_{H_{3}N} \bigoplus_{NH_{3}} \bigoplus_{H_{3}N} \bigoplus_{NH_{3}} + CO_{3}^{2-}$$

$$(2)$$

#### スキーム 1. PutrescineのCO2吸収機構

- (1) 一級アミンが大気中のCO2と反応し、安定なcarbamate誘導体が生じる。
- (2) Carbamate誘導体は徐々に水和し、より安定なHCO3-が生じる。
- (3) CO<sub>3</sub><sup>2</sup>-はジカチオンとなったputrescine存在下で安定化される。



13C-NMRを測定し、重炭酸イオンと炭酸イオンの 総量 (HCO<sub>3</sub>- + CO<sub>3</sub><sup>2</sup>-) を算出したところ、24時 間以降徐々に増加し、48時間後には、putrescine で約10 mM、piperazineで約20 mMまで上昇した (図6B, 7)。これらの結果から、ポリアミンによ る空気中のCO2吸収機構は、ポリアミンがCO2と反 応しcarbamate誘導体となり、carbamate誘導体が 徐々に水和してHCO3-が生じ、ポリアミンがさらに HCO3-からH+を引き抜きCO32-が生じ石灰化が促進 されていると推定できる(スキーム1)。また、一 級ジアミンを有するポリアミンのcarbamate誘導体 は非常に安定であることが分かった。次に、 carbamate誘導体のpH安定性を調べるため、65% がcarbamate誘導体である1,3-propandiamine重 水溶液のpHを調整し、<sup>1</sup>H-NMRを測定した。その 結果、1,3-propandiamineのcarbamate誘導体は pH 8-11の範囲では比較的安定であることが分かっ た(図8)。これらの解析から、ポリアミンのCO<sub>2</sub> 吸収能の鍵は、carbamate誘導体の安定性にあり、 水溶液中でcarbamate誘導体が安定して存在できる ために、より多くのHCO<sup>3-</sup> + CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>が生じることが わかった。本実験では、大気圧下という非常にCO2 分圧が低い条件で、且つ、蓋をしたプレート内で反 応させたため、CO2を十分に吸収するのに数日を要

したが、ポリアミン溶液と空気の接触面積を増や す、温度を上げる、溶液を攪拌する、空気を吹込 む、高濃度のCO<sub>2</sub>と接触させるといった条件では、 非常に速い速度でCO2と反応する。反応速度に関し ては、合成アミンとCO2取り込みに関する多くの研 究が報告されている8-9)。また、生体反応において も、生体分子内のアミノ基とCO2の反応の重要性が 知られている。例えば、光合成のCO2固定酵素であ るRubiscoの活性化は、活性中心のリジン残基が CO<sub>2</sub>と結合しcarbamate型になることで起こる<sup>10)</sup>。 また、血液中のCO2輸送の一部を担うとされている カルバミノヘモグロビンは、ヘモグロビンのアミノ 末端がCO2と結合したものである<sup>11)</sup>。ポリアミンの CO<sub>2</sub>との反応性は特に高くcarbamate誘導体も比較 的安定であるため、生体内でポリアミンの一部が carbamate誘導体として存在し、CO2輸送や無機炭 素濃度維持に関与している可能性は十分にあると思 われる。

#### 7. 結語

本研究は生体物質であるポリアミンとCO2の反応性と石灰化への関与を指摘した初めての例である。海洋生物の石灰化部位の無機炭素濃度は通常高く、pH 8.5~9.5と弱アルカリ性であることが報告され

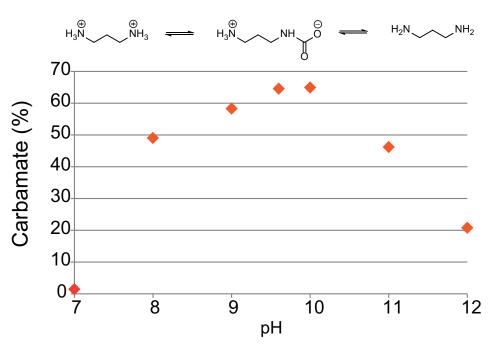


図 8. 1,3-propanediamine のcarbamate誘導体のpHに対する安定性

65%がcarbamate誘導体となった1,3-propanediamine(50 mM/D<sub>2</sub>O)のpHを調整し、<sup>1</sup>H-NMRでcarbamate誘導体の割合の変化を調べた。



ている<sup>12,13)</sup>。生体内のpH調整に塩基性物質で細胞 内に高濃度で存在するポリアミンが関与している可 能性はあるのではないだろうか。海洋生物の石灰化 に寄与する能動的なCO2輸送機構の存在を明らかに 出来れば、石灰化反応がCO2固定であると分子レベ ルで証明できる。冒頭で述べたように、海洋生物の 石灰化反応はCO2放出とされる場合も多く、海洋生 物のCO2の固定量は過小評価されている。サンゴ礁 などがCO2を固定していることが証明できれば、サ ンゴ礁保全にも好影響を与えるであろう。また、著 者らはCO2を吸収させたポリアミン溶液が、光合成 におけるCO2固定酵素であるRubiscoのカルボキシ ル化の基質となりうること(投稿中)、ポリアミン 溶液の付与が植物の個葉レベルの光合成量を増加さ せることも新たに見出しており、次の機会に紹介さ せて頂きたい。今後は、サンゴなどの海洋生物の石 灰化や植物の光合成におけるCO2輸送機構、生体内 のCO2ガス交換とポリアミンの関わりなどを検討し ていきたい。将来、ポリアミンが地球の炭素循環の 鍵となる生体物質であることが証明できることを期 待する。

#### 参考文献

- 1. Yasumoto K, Yasumoto-Hirose M, Yasumoto J, Murata R, Sato S, Baba M, Mori-Yasumoto K, Jimbo M, Oshima Y, Kusumi T, Watabe S.: Biogenic polyamines capture CO<sub>2</sub> and accelerate extracellular bacterial CaCO<sub>3</sub> formation. Mar Biotechnol, 16: 465-474 (2014)
- 2. Henry LH, Dianne KN.: Microbial formation and degradation of carbonates. In: Giomicrobiology.5th Edition CRC Press, United States; 157189 (2009)
- 3. 北野 康:炭酸塩堆積物の地球科学 東海大学出版会, (1990)
- Kitano Y: Calcification and atmospheric CO<sub>2</sub>.
   In: Westbroek, P. & de Jong E. W., Biomineralization and Biological Metal Accumulation.
   D. Reidel Publishing Company, Dordrecht, Holland; 8998 (1983)

- 5. Ware JR, Smith SV, Reaka-Kudla ML.: Coral reefs: sources or sinks of atmospheric CO2? Coral Reefs, 11; 127130 (1992)
- 6. 長澤寛道:バイオミネラリゼーションにおける基質高分子化合物の関与. 海洋生物の機能:生命は海にどう適応しているか,竹井祥郎編,海洋生命系のダイナミクス第2巻東京大学海洋研究;298311 (2005)
- 7. Rochelle GT.: Amine scrubbing for CO<sub>2</sub> capture. Sci, 325: 16521654 (2009)
- 8. Conway W, Wang X, Fernandes D, Burns R, Lawrance G, Puxty G, Maeder M.: Toward rational design of amine solutions for PCC applications: the kinetics of the reaction of CO<sub>2</sub> (aq) with cyclic and secondary amines in aqueous solution. Envirol Sci Technol, 46: 7422-7429 (2012)
- 9. Vaidya PD, Kenig EY.: CO<sub>2</sub>-Alkanolamine Reaction Kinetics: A review of recent studies. Chem Eng Technol, 30: 1467-1474 (2007)
- 10. Sakata, T, Kachi N, Yokoi Y.: Quantitative evaluation of the counterbalance between photosynthetic stimulation and depression caused by low partial pressure of O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> in alpine atmospheres. Polar Sci, 1: 55-62 (2007)
- 11. Hsia CC.: Respiratory function of hemoglobin. N Engl J Med, 338: 239-248 (1998)
- 12. Erez J.: The source of ions for biomineralization in foraminifera and their implications for paleoceanographic proxies. Rev Mineral Geochem, 54: 115–149 (2003)
- 13. Ohno Y, Iguchi A, Shinzato C, Inoue M, Suzuki A, Sakai K, Nakamura T.: An aposymbiotic primary coral polyp counteracts acidification by active pH regulation. Sci Rep, 7: 40324 (2017)



# ポリアミン研究に役立つ化合物の合成 (1)ポリアミン骨格の合成

# 森谷 俊介、鮫島 啓二郎

東京都医学総合研究所 幹細胞 (156-8506東京都世田谷区上北沢2-1-6)

#### 1 はじめに

生化学誌で化学合成の実験手技をどのように記すべきか迷ったが、基本的な実験操作法については他書に譲り、反応後の複雑な系から目的生成物を単離する過程に比重を置いて記述することにする。化合物の選択は入手が難しいことを一つの条件とし、筆者の経験からポリアミンの化学合成の概観がつかめるように心掛けた。本稿ではプトレッシン、スペルミジンを対象として、小スケールで収率も満足でき、必要ならば市販の安定同位体標識原料を利用してポリアミン骨格内に安定同位体を導入できる合成法について記す。

#### 2 プトレッシンの合成

ポリアミン合成の出発化合物である1,4-ジアミノ ブタンは低分子量で容易に合成できるが、揮散、無 機塩の混入に特に注意が必要である。ここでは二種 類の方法を紹介する。

#### 2-1 ガブリエル法

合成の行程 (Step 1 ~ 2) をチャート1に示す。

$$\begin{array}{c|c} & & & Br \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & \\ & & & \\ &$$

チャート1

**Step 1** 1,4-ジブロモブタンとフタルイミドカリウムとの反応

[反応条件] 1,4-ジブロモブタン1 mmolに対してフタルイミドカリウム2 mmolをジメチルホルムアミド (DMF) 2 mL中に加え、80°C、3時間攪拌する(この比率でスケールアップ可能)。

[反応経過] フタルイミドカリウムはDMFに溶けに くく、はじめ懸濁状態であるが、次第に沈みやすい 沈殿に変わり攪拌を止めるとすぐに沈殿するように なる [臭化カリウム (KBr) の沈殿]。

[生成物の分離] 生成物N,N'-ジフタロイルプトレッシン(I)は水に難溶性、KBrは水溶性、DMFは有機溶媒、水両方に易溶なので、反応液を十分量の水に注ぐと化合物 I のみが沈殿してくる。これを 沪取し、水洗して乾燥粉末にする。

#### Step 2 化合物 I の脱フタロイル化

[反応条件] 化合物 I の粉末およそ0.4 gを耐圧試験管(耐酸性O-リング、スクリューコック付き) に入れ、濃塩酸:酢酸 (1:1 v/v) 混液4 mLを加えて密封し、120°C、3日間(目安) 加熱加水分解する。

[反応経過] 不溶性の化合物 I が加水分解の進行と ともに溶解していくのを目安として、均一な溶液に なるのを待って反応終了とする。

[生成物の分離] 反応液中、プトレッシンはイオン型、オルトフタル酸は分子型(水に溶けにくいが若干溶ける)になっている。もし反応液を中和してアルカリ性にすると、プトレッシンは分子型となり揮散するので、分離の過程で液性は酸性を保つことが必須である。

操作1 反応液の濃縮乾固 反応液を室温に戻すと



オルトフタル酸が析出するので、できるだけ温かい うちに濃縮用ナスコルベンに水で洗い込み、水流ポ ンプ (オイルポンプの使用厳禁) とロータリエバポ レータで減圧濃縮乾固する(水浴の外温は自由)。 残渣に純水を加えて多量のオルトフタル酸を懸濁、 ろ過して除き、冷水適量で洗い、沪液と洗液を合わ せて試料溶液とする。

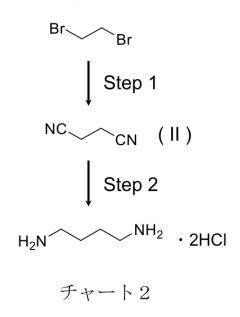
操作2 カラムクロマトグラフィ 強酸性イオン交 換樹脂 (DOWEX 50W x 8, 100-200メッシュ、交 換容量1.7 meg/mL) をあらかじめ1 M程度の水酸 化ナトリウム (NaOH)、水、ついで4 M程度の塩 酸、水で順次洗いH型として準備する。使用量は理 論生成量のプトレッシンのおよそ7 ~ 8倍meqに当 たる交換容量を目安とする。操作1で調製した試料 溶液をカラムにかける。残存しているオルトフタル 酸やクロルイオンなどの陰イオンはカラムを素通り し、プラスに荷電したイオン型のプトレッシンはカ ラム上部からしつかり吸着する。かけ終わった後、 カラムを~ 0.5 M 塩酸でプトレッシンの吸着バンド が目視できるまで十分に洗う(一価の陽イオンなど も溶出される)。次いで1 M 塩酸で洗い(吸着バ ンドは見えにくくなるがプトレッシンの溶出は通常 心配しなくて良い)、2 M 塩酸でプトレッシンを 溶出する。溶出の終了は薄層クロマトグラフィ (TLC) (シリカゲル、n-ブタノール/酢酸/水 (3: 2:2)、ニンヒドリン検出)で調べてプトレッシン の溶出分画を集め減圧濃縮乾固し、プトレッシン二 塩酸塩の粗結晶を得る。

操作3 再結晶 粗結晶を少量の50% 水/エタノールに溶かし、それにエタノールを加えて結晶が析出し始めたらしばらく室温に放置し、4°Cで一晩放置した後、結晶を沪取してデシケータ中で乾燥する。沪液を濃縮して残存プトレッシンを更に結晶化するのは二価の金属塩の混入の可能性があるので注意が必要である。

#### 2-2 ニトリルの還元

ニトリルの還元は一般的に還元中間体が不安定なため収率が悪く、昔から多くの方法が工夫されてきた。推奨できる方法として常圧接触還元法と水素化物還元法<sup>1)</sup>とがあるが、ここではポリアミン関連

化合物に適用でき、収率も60%程度で満足できる後者の方法を紹介する。合成の行程(Step  $1 \sim 2$ )をチャート2に示す。



**Step 1** 1,2-ジブロモエタンとシアン化カリウムとの反応

[反応条件] シアン化カリウム 7 mmol を 1.25 mLの水に溶かし、それにエタノール 3.75 mL および 1,2-ジブロモエタン 7 mmolを加え,混合液を4時間加熱還流する。

(解説)この反応は最初のニトリル基の置換が律速で直ちにサクシノジニトリル(Ⅱ)になる。塩基であるシアン化カリウムの有効利用と避けられないイソニトリル体の生成をできるだけ抑制するための経験的な比率(等モル)である<sup>2)</sup>。

[反応経過] 反応時間の経過に伴いKBrが一部析出するとともに反応液の着色が強まり、同時にイソニトリル体に起因すると思われる異臭が発生する。4時間を目安に反応を停止する。

[生成物の分離] 化合物 II はアセトン、水、エタノールなどに可溶で、エーテルには難溶である。このような溶媒への溶解性を考慮して、反応により生成したKBrとの分離は、反応溶液にアセトンを過量に加えてKBrを析出させ沪過して除き、沪液を濃縮乾固して水分が大部分除去された残渣に更にアセトンを加えてKBrの大部分を沪別除去する。アセトンを除去して得られた残渣を直接Step2 の試料とする(KBrが残っていても構わない)。



#### Step 2 化合物IIの還元

[反応条件及び経過] あらかじめテトラヒドロホウ 酸ナトリウム 12 mmolをテトラヒドロフラン (THF) 9 mLに懸濁し、トリフルオロ酢酸 (TFA) 12.5 mmolを攪拌下注意しながら滴加する(激し く発泡する)。次いで氷冷したその混合液に、 Step 1で調製した化合物 II 3 mmol に対してTHF およそ 1 mLを加えて溶かした試料溶液をピペッタ ーでゆっくり加える(特に激しい発泡はない。更に フラスコをTHF少量で洗い同様にして加える)。滴 加終了後、室温に戻し12時間攪拌を続けて反応を 完結させる。残存テトラヒドロホウ酸ナトリウム・ トリフルオロ酢酸は水を加えると激しく反応して分 解し、強塩基性を示す。強塩基性溶液中ではプトレ ッシンは上述したように揮散するため、水の代りに 濃塩酸2 mLを1滴ずつ注意しながら加え、発泡が治 まった後液性が酸性になっていることを確かめて次 の操作1の試料溶液とする。

[生成物の分離] 操作1 試料溶液の濃縮乾固 試料溶液中のTHFやTFAを減圧で濃縮、除去する(発泡に注意)。残渣に2 M 塩酸を加えて再溶解し濃縮乾固すると、ホウ酸関連と思われる無機化合物とプトレッシン塩酸塩の白色残渣が得られる。適量の水に溶かしpH試験紙でpH 5 ~ 6になるように希水酸化ナトリウムで中和し、操作2の試料溶液とする。

操作2カラムクロマトグラフィ 上記2-1 (Step 2)の生成物の分離、操作2で準備調整したDOWEX 50W x 8 (H型)を再度1 M NaOHでNa型に変え水洗したカラムに、操作1で得られた試料溶液をかける。かけ終わってからカラムを水で良く洗う(ホウ酸関連無機化合物の排出)。次いで0.2 M 塩酸を流し流出液が十分酸性になるのを目安として、塩酸濃度を上げ2-1と同様にしてプトレッシン二塩酸塩を得る。Na型カラムを用いた理由は、試料をかけたときにH型カラムの場合カラムの中で発泡が認められたためである。

上記したプトレッシン合成法に適用できる市販の安 定同位体標識化合物を参考のために記す。 <sup>15</sup>N-Potassium phthalimide 1,4-Dibromobutane-1,1,4,4-d4 <sup>13</sup>C-Potassium cyanide <sup>13</sup>C,<sup>15</sup>N-Potassium cyanide [1-<sup>13</sup>C]-Ethylene gas (ブロムを付加して1,2-dibromoethaneにする)

#### 3 スペルミジンの合成

非等価のアミノ基3個を持つスペルミジンを合成するために利用される反応は、各種長鎖ポリアミンの合成およびアミノ基の選択的アセチル化などに応用することができる。プトレッシンからスペルミジンを合成する行程(Step 1 ~ 6)をまとめてチャート3に示す。



**Step 1** モノBoc-プトレッシン(Ⅲ)の合成 [反応条件] プトレッシン二塩酸塩(2.2 mmol)を2 M 酢酸ナトリウム水溶液3 mL及びエタノール9 mLに溶かして氷冷し、激しく攪拌しながら二炭酸 ジ-t-ブチル[(Boc)<sub>2</sub>O, 2.2 mmol]を加える。3 ~ 4時間後に4 M NaOH 0.3 mLを加えて、室温で12時間攪拌し続ける。

[生成物の分離] 反応液を減圧濃縮乾固し、3 M酢酸8 mLを加える(発泡注意)。不溶性成分を含む懸濁液にクロロホルム5 mLを加えて分液ロートで良く振りクロロホルム層をとり、酢酸層にクロロホルム5 mLを更に加えて同様操作を行い、クロロホルム層を合わせる。まとめたクロロホルム層は3 M酢酸3 mLで洗い、酢酸層は先の酢酸層と合わせ、クロロホルム層はジBocプトレッシン分画としてプトレッシンの回収に使用する。酢酸層に4 Mアンモニア10 mLを加えて塩基性とし、クロロホルムで化合物Ⅲを抽出し濃縮乾固してそのままStep 2の原料とする。分子型の化合物Ⅲは空気中の炭酸ガスで炭酸塩になりやすいので注意が必要である。

(解説)アミノ基の保護試薬は種々あるが、プトレッシンの片方のアミノ基だけを選択的に保護できるような試薬はない。一方のアミノ基が保護されると他方のアミノ基の保護反応が早まるためである。上記反応条件はジBoc体の生成を少しでも抑制するための条件として報告されたものであるが、化合物Ⅲの収率は30%程度である。収率が悪くても、分液ロートでの抽出分離操作で化合物Ⅲが容易に得られること、ジBocプトレッシンを塩酸処理すればプトレッシンの回収が容易に行えることがメリットである。

#### Step 2 化合物Ⅲのモノベンジル化

[反応条件] 化合物  $\square$  0.8 mmolをメタノール 8 mLに溶かし、トリエチルアミン 0.8 mL、ベンズアルデヒド 90  $\mu$ L、無水硫酸マグネシウム(脱水剤)を加えて室温で1時間攪拌後、氷冷下、テトラヒドロホウ酸ナトリウム 90 mgを少量ずつ15分以上かけて加える(発泡を伴う)。室温に戻し 30分間攪拌を続ける。

(解説) 一級アミンを1モルのベンジル基で保護す

るための常法である。アミンとベンズアルデヒドを 脱水縮合させてアルジミンを形成させ、二重結合を 還元してベンジル基に変換する。

[生成物の分離] 反応液をそのまま減圧濃縮乾固し、残渣を水ーエーテルの系で分液ロートで化合物 IVを抽出し、水層を捨てる。新たに水を加え、水洗操作を繰り返す(少なくとも3回、ホウ酸関連塩の除去)。エーテル層を減圧乾固する(エーテルを除いた後、エタノールを加えて再乾固し完全に脱水する)。そのまま化合物IVとして次のStep 3に進む。

**Step 3** *N*-3-ブロモプロピルフタルイミドによる化 合物IVのアルキル化

[反応条件] 化合物IV 0.75 mmol (不純物込みの重量換算)及びN-3-ブロモプロピルフタルイミド 0.75 mmolをアセトニトリル 5 mLに溶かし、KF/セライト 0.5 gを加え、還流冷却器を付けて、攪拌しながら12時間加熱還流する。化合物 V の検出は TLC(シリカゲル、ベンゼン/アセトン(4:1)、UV検出)で行う。新たに観察されるテーリング気味の強いUV吸収バンドが化合物 V である。

KF/セライトの調製<sup>3)</sup>:フッ化カリウム5 gを 精製水 125 mLに溶かしセライトNo545 5 gを加えてまぶし、ロータリエバポレータで減 圧濃縮乾固する(外温 50~60 °C)。アセトニトリル 13 mLにまぶしてガラスフィルタ に移し更にアセトニトリル13 mLで洗いろ過 する。KF/セライトを乳鉢に移し、そのまま 乾燥剤塩化カルシウムの入ったデシケータに 移し減圧乾燥(一晩)する。翌日粉末化して 保存容器に移し更に一晩減圧乾燥して常圧に 戻し、室温保存、用時使用する(乾燥のし過 ぎに注意)。

[生成物の分離] 操作1 反応液の濃縮乾固 反応液中のKF/セライトを沪別しアセトニトリルで洗い、沪液と洗液を混ぜて濃縮乾固する。アセトニトリルが残っていると操作2の分離に影響があるので、ベンゼンを適量加えて再濃縮乾固し試料とする。



操作2 カラムクロマトグラフィ シリカゲル(ワコーゲルC-300)7 gをベンゼン/アセトン(50:1)で平衡化してカラムを調整する。操作1で得た試料を同じ混合溶媒8 mLに溶かしてカラムにかける。更に同じ混合溶媒で流し続け、吸着バンドの先端の移動状況を見ながら必要に応じてアセトン含量を高め、バンドがカラムの先端に近づいてから溶離液を集め始めてベンゼン/アセトン(20:1)で溶離を続ける。適宜TLCで確かめながら単一バンドの飴状化合物Vを得る。

(解説) 化合物 V はスペルミジンの三つのアミノ基に別の保護基がついた化合物で、目的に応じて選択的に脱離できる。Bocは塩酸酸性で、ベンジルは接触還元で、フタロイル基はヒドラジンで脱離する。以下のStep 4、5、6はスペルミジン塩酸塩を効率良く得るための保護基の脱離順序である。

Step 4フタロイル基の脱離 (ヒドラジン分解)[反応条件]化合物 V0.54 mmolをナスコルベン(30 mL)に入れ、メタノール 4.5 mLに溶かし、ヒドラジン水和物 0.17 mLを加えて攪拌しながら3時間を目安に加熱還流する (この比率でスケールアップ可能)。

[反応経過] 30 ~ 60分後に白色チーズ様不溶物が 析出しはじめ、時間と共に増量する(オルトフタル 酸とヒドラジンが結合した不安定化合物)。

[生成物の分離] 操作1 反応液の濃縮乾固 室温に 戻した反応液をそのまま減圧濃縮すると突沸し易い ので空冷下で注意しながら溶媒を除く。

操作2 化合物VIのクロロホルム抽出 得られた残渣に4 Mアンモニアを~10 mL加えナス型コルベンに栓をして激しく振る。ルミノール様化合物は分解してオルトフタル酸アンモニウムとヒドラジンになり、溶解する。化合物VIは一級アミンと三級アミンを持ったジアミンで、アンモニアアルカリ性水溶液中で分子型になっている。この溶液にクロロホルムを加えて良く振ると、化合物VIのみがクロロホルム層に移行する。クロロホルム層はヒダ沪紙を通して含まれる水分を沪紙に吸収させて澄明なクロロホルム相出液とし、濃縮乾固する。得られる飴状残渣はそのままで十分な純度の化合物VIである。化合物VI

の検出はTLC(シリカゲル、n-ブタノール/酢酸/水(3:2:2)、UV及びニンヒドリン検出)で行う。

#### Step 5 ベンジル基の脱離

[反応条件] 化合物VIを酢酸5 mLに溶かし、ミクロスパチュラ2 ~ 3杯分のパラジウムー活性炭素 (Pd 10%) 触媒を加え、接触還元装置にセットする。水素ガスに置換した後、60°Cで攪拌を続ける [反応経過] 数時間で水素の吸収は収まるが、その後室温のまま一晩攪拌を続けてベンジル基のトルエンへの完全変換脱離を行う。

[生成物の分離] ディスポーザブルメンブレンフィルタ (PTFE、0.45 μm) に反応液を通して澄明な 戸液を集め、触媒を酢酸で洗った洗液をまとめて濃縮乾固する。ほぼ単一バンドの化合物VII・二酢酸塩を得る。化合物VIIの検出は化合物VIと同じTLC条件で行い、ベンジル基の脱離によりUV吸収バンドの 消失を確かめる。

#### Step 6 Boc基の脱離

[反応条件] Boc基は塩酸酸性で容易に炭酸ガスの 気泡を伴いながら脱離する。塩酸濃度や温度条件、 時間などは、化合物の酸に対する安定性や後処理などを考慮して適宜決める。スペルミジンは酸に対し 安定なので、例えば0.5 M塩酸中で加温すれば1時間程度で完全に脱離する。一例として、化合物VIIの量から塩酸塩として消費される3倍モルの塩酸を目安として、その数倍モルに対応する0.5 M塩酸を加えて行う。

[生成物の分離] 操作1 反応液の濃縮乾固 Boc由来の二酸化炭素やイソブテンが発泡の原因となり突沸には十分注意して減圧濃縮乾固する。過量の塩酸を除去し、スペルミジン三塩酸塩の白色結晶を得る。

操作2 再結晶 50% 水/エタノールに溶かし、それにエタノールを加えて結晶が析出し始めたらしばらく室温に放置し、さらにエタノールを適宜加えて4°Cで保存する。プトレッシンの場合より50% 水/エタノールの使用量が比較的多くても結晶化は容易である。

上記したスペルミジン合成法に適用できる安定同位



体標識化合物として、プトレッシンのところで記述 したものに  $^{15}$ N-N-3-bromopropylphthalimide を加える。

#### 4 おわりに

スペルミンの合成は、次回アセチルポリアミンの合成で付録として解説する予定である。スペルミジンの合成法を参考にして、プトレッシンからどのような行程で合成すればよいかを考えてみるのも面白いだろう。

#### 参考文献

- 1) C. R. Caldwell and A. Haug. Affinity chromatographic isolation of calmodulin from bovine-brain acetone powder. Anal. Biochem. 116, 325-330 (1981)
- 2) K. Samejima, N. Matsushima, M. Niitsu, T. Beppu, and B. Frydman. Syntheses of [5,8-13C<sub>2</sub>]- and [1,12-13C<sub>2</sub>]spermine using potassium [13C]cyanide as the <sup>13</sup>C source. Chem. Pharm. Bull. 43, 2001-2004 (1995)
- 3) T. Ando and J Yamawaki. A versatile reagent for C-, N-, O-, and S-alkylations. Chem. Lett. 8, 45-46 (1979)



# 最新の研究紹介

納豆菌によるスペルミン分解とスペルミジン/スペルミンアセチルトランスフェラーゼ遺伝子発現 の関わり

小林 和也

新潟県農業総務課政策室(前 新潟県農業総合研究所食品研究センター)

Bacterial degradation of spermine and expression of spermidine/spermine acetyltransferase in *Bacillus subtilis* (natto) under liquid cultivation

Kazuya Kobayashi, Yuji Kubo, Yuichiro Horii, Toshikazu Nishiwaki, Shin Kamiyama, Hideyuki Sone, Satoshi Watanabe. Journal of General and Applied Microbiology, 2017 63, 373

納豆は大豆由来の豊富なポリアミンを含有する高ポリアミン食品であるが、一方で発酵中にスペルミン(SPM)が減少することが技術的な課題であった。

そこで、筆者らは納豆菌によるSPM分解について基礎的な研究を行ったところ、納豆菌はLB培地で培養した場合にSPMを速やかに分解することを明らかにした。この分解反応はアセチル化によるものであることから、スペルミジン/スペルミンアセチルトランスフェラーゼ(SSAT)の関与が示唆された。そこで枯草菌で同定されている2種のSSAT(BltDおよびPaiA)をコードする遺伝子bltDおよびpaiAのmRNA発現量を測定したところ、LB培地にSPMを添加した場合に、納豆菌のbltD発現量が顕著に増加することを確認した。したがって、BltDが納豆菌における主要なSPM分解酵素と推測された。また、最少培地で試験をした場合にはSPM分解及びbltDの発現亢進が認められないことから、分解にはSPM以外の何らかの因子が必要であるという興味深い知見も得られた。

核小体におけるアンチザイム 2 を介した新規ユビキチン非依存的c-Myc分解経路 村井 法之

東京慈恵会医科大学分子生物学講座

Novel ubiquitin-independent nucleolar c-Myc degradation pathway mediated by antizyme 2 Noriyuki Murai, Yasuko Murakami, Ayasa Tajima, Senya Matsufuji Scientific Reports 2018, 8(1), 3005

これまでがん原遺伝子産物であるc-Mycタンパク質の細胞内における分解は、Thr-58がリン酸化されたc-MycがFbxw7/FBW7と呼ばれるユビキチンリガーゼによって認識およびポリユビキチン化され、プロテアソームにより行われることが知られていた。我々は新たにポリアミン調節タンパク質ファミリーであるアンチザイム2 (AZ2)がc-Mycと核小体で相互作用し、ユビキチン非依存的にc-Mycを分解促進することを発見した。さらにAZ2のノックダウンは、核小体のc-Mycを安定化しc-Mycが関与するリボソームRNA前駆体も増加させた。低酸素や低栄養(グルコースフリー)環境においては、c-Mycのダウンレギュレーションが観察されるが、このとき細胞内のポリアミンも上昇する。これらの環境におけるAZ2のノックダウン解析から、ポリアミンの上昇がAZ2の発現を誘導し核小体におけるc-Myc の分解を促進することが示唆された。



# 最新の研究紹介

マーカーレス遺伝子欠損によるBacteroides doreiのアルギニンデカルボキシラーゼ遺伝子speAの機能解析

阪中 幹祥, 栗原 新 石川県立大学 生物資源環境学部

Functional analysis of arginine decarboxylase gene speA of Bacteroides dorei by markerless gene deletion

Mikiyasu Sakanaka, Yuta Sugiyama, Misaki Nara, Aya Kitakata, Shin Kurihara FEMS Microbiology Letters, 2018, 365(4), fny003.

ヒト腸内細菌叢において優勢な細菌種であるBacteroides doreiにおいて、マーカーレス遺伝子欠損系を確立した。具体的には、他のBacteroides属細菌で応用されているように、チミジンキナーゼ遺伝子 (tdk) 欠損株と対抗選択マーカーtdkを用いてマーカーレス遺伝子欠損を導入する系を構築した。本系を駆使して作出したアルギニンデカルボキシラーゼ遺伝子 (speA) 欠損株は、親株と比較して生育能が大幅に低下していた。さらに、speA欠損株の細胞内および培養上清中のスペルミジン濃度は親株よりも大きく低下していた。以上より、Bacteroides doreiにおけるマーカーレス遺伝子欠損系の確立、および、本菌のスペルミジン生合成におけるspeAの重要性の解明に成功している。

スペルミン酸化酵素はアクロレインの産生により毛細胆管形成を促進する 植村 武史 株式会社アミンファーマ研究所

Spermine oxidase promotes bile canalicular lumen formation through acrolein production Takeshi Uemura, Tomokazu Takasaka, Kazuei Igarashi, Hiroshi Ikegaya Scientific Reports 2017, 7(1), 14841

スペルミン酸化酵素(Spermine oxidase, SMOX)は、スペルミンを酸化的に分解し、反応副産物として $H_2O_2$ および3-aminopropanal(3-AP)を生成する。3-APは非酵素的に脱アミノ化し、アクロレイン( $CH_2$ =CHCHO)を生じる。アクロレインは反応性が高く強い毒性を示す。我々は、肝細胞におけるSMOXおよびアクロレインの生理機能をHepG2細胞を用いて検討した。SMOXの細胞内分布を検討した結果、肝細胞間に形成される毛細胆管に局在が見られた。SMOXノックダウン細胞では、毛細胆管の形成が有意に減少した。アクロレインスカベンジャーN-benzylhydroxylamineにより毛細胆管の形成が減少したことから、SMOX依存的に生成したアクロレインが毛細胆管の形成に関与することが示唆された。毛細胆管の形成におけるSMOX、アクロレインの役割を検討した結果、細胞骨格再構築に重要なAktシグナルの抑制因子PTENがアクロレインによりアルキル化され不活化した結果、毛細胆管の形成が促進されることが示唆された。毛細胆管は肝細胞から分泌された胆汁を総胆管へと導く重要な構造である。本研究では、SMOXおよびアクロレインの毛細胆管形成における役割が明らかになった。



青枯病トマトの導管液のメタボロミクス-病原細菌*Ralstronia solanacearum*が産生するプトレッシンはトマトの青枯病を促進する

(紹介者)石井友理

関西学院大学大学院理工学研究科

Metabolomics of tomato xylem sap during bacterial wilt reveals *Ralstonia solanacearum* produces abundant putrescine, a metabolite that accelerates wilt disease

Tiffany M. Lowe-Power, Connor G. Hendrich, Edda von Roepenack-Lahaye *et al.* Environmental Microbiology, 2018, 20(4), 1330

病原細菌Ralstonia solanacearumはトマトやジャガイモに青枯病を引き起こす。青枯病とは、本菌が植物の木部へ侵入し、バイオフィルムの形成により導管液の流入を阻止することで、水分の上昇が妨げ

られ、植物が萎れることを指す。本論文では、①R. solanacearumが植物体 (トマト)に感染すると、導管液の栄養分が濃縮されること、②感染後にポリアミンのうちプトレッシンが著量含まれること、③R. solanacearumが導管液中でプトレッシンを産生・排出すること、④植物体をプトレッシン水溶液に浸すと青枯病の諸症状が促進され、またR. solanacearumの増殖が活性化されることが認められた。本研究により、植物体内におけるプトレッシンが、青枯病を引き起こす重要な要素であることが示された。プトレッシンの濃度調節が、農作物の病害を防ぐ手段となることが期待される。



#### 植物のサーモスペルミン合成酵素の結晶構造

(紹介者) 篠原志桜里

岡山大学大学院自然科学研究科

Crystal structure of thermospermine synthase from *Medicago truncatula* and substrate discriminatory features of plant aminopropyltransferases

**Bartosz Sekula and Zbigniew Dauter** 

Biochemical Journal, 2018, 475, 787

植物は、スペルミジン合成酵素から独自の分子進化により獲得したスペルミン合成酵素と、進化的により古く原核生物のトリアミン/アグマチンアミノプロピル転移酵素(TAAPT)起源と推定されるサーモスペルミン合成酵素を持っている。本研究では、マメ科のモデル植物であるタルウマゴヤシのサーモスペルミン合成酵素MtTSPSを結晶化した。X線小角散乱のデータと合わせて解析した結果、MtTSPSは相称型のホモ4量体で、その中央に8つのストランドからなるβバレルの分子間ドメインがあることがわかった。他の多くのアミノプロピル転移酵素はホモ2量体である。そうした分子集合は、スペルミジンの認識とサーモスペルミンの解放の効率向上に寄与していると予想される。さらに植物の他のアミノプロピル転移酵素との比較から、スペルミジンやスペルミンの合成酵素では基質としてジアミノブチル基が配置される部位に、ジアミノプロピル基が配置する特異性に関わるアミノ酸を特定した。



# 第9回年会総括

# 年会世話人 藤原伸介 関西学院大学理工学部生命科学科

日本ポリアミン学会第9回年会は、2018年1月19日(金)~20日(土)の2日間にわたり、兵庫県西宮市 の関西学院大学上ヶ原キャンパス関学会館において開催されました(写真1)。寒さの厳しい時期であった にも関わらず、初日から多数の方にご参加いただき(事前登録者89名)、活発な議論が行われました。 今回は特別講演として、大橋康司先生(参天製薬株式会社・研究開発本部)に「スペルミジンの酸化によ るラット網膜色素上皮の変性」と題するご講演を、Han-Jia Lin先生(台湾海洋大学)には「Polyamine based novel carbon materials as high-efficiency and low-toxicity bactericides」と題するご講 演をいただきました。Han-Jia Lin先生には、2018年9月に台北で開催される国際ポリアミン学会の概 要を紹介していただきました。国際学会への参加を考えていた日本のポリアミン研究者にとって、今回 の詳細な情報は役立ったのでないでしょうか。今年の年会では、一般講演としては32演題の発表があり ました(19日に14演題、20日に18演題)(写真1)。哺乳類の生理現象に加え、植物や微生物を対象とし た研究も紹介され、分野を越えた情報交換がなされました。特に今年はじめてポリアミン学会に参加さ れた方も多く、この年会によりポリアミン研究のネットワークが拡がれば、担当者として非常に嬉しく 思います。懇親会は、19日夕方に同じ建物内の別の部屋で開催され、72名の方が参加されました。懇 親会では一般講演中にできなった議論も行われていたように感じます。学会に華を添える余興として、 大阪大学のダンスサークル、関西学院大学のよさこいサークルによる演舞も行われました(写真2)。年会 担当者として不慣れな点も多々ありましたが、ポリアミン学会事務局の先生方、昨年の年会を担当され た河合剛太先生、根本直樹先生のご助言もあり、何とか無事に終えることができました。心より感謝申 し上げます。

今年度の年会を開催するにあたり、広瀬化学薬品株式会社様、本学(関西学院大学)社会連携機構からは、協賛としてご支援をいただきました。また、湧永製薬株式会社様、株式会社アズバイオ様、大関株式会社様、マルカン酢株式会社様には、講演要旨集に広告のご支援をいただきました。さらに、協同乳業株式会社様からは美味しいヨーグルトを、マルカン酢株式会社様からは高級食酢をご提供いただきました。年会開催を支えて下さった関係者の方々に、あらためて心より御礼申し上げます。







写真2



# 日本ポリアミン学会第9回評議員会議事録

日時: 平成30年1月19 (金) 11:45~13:00

会場: 関西学院会館 輝きの間

出席者:五十嵐一衛、大島泰郎、大澤仲昭、岡 孝己、柏木敬子、河合剛太、川喜田正

夫、早田邦康、松藤千弥、鈴木秀之、村井法之、藤原伸介

#### 議事予定:

- 1. 役員人事
- 1) 第12回年会担当役員候補の選出

高橋 卓氏 (岡山大学)を第12回年会担当役員候補として選出した。

- 2. 会則の変更
- 1) 会則第3章第4条および7条に、外国人特別会員の会則を追加する。
- 2) 会則第8章委員会を設け、第21条を追加する。
- 3) 日本ポリアミン学会企画・運営委員会規程を設ける。
- 以上3件が承認された。
- 3. 事業報告
- 1) 会員数・会費納入状況
- 2) 学会誌の発行(ポリアミン学会誌4巻1号, 2号) 以上2件が承認された。
- 4. 日本学術会議協力学術研究団体加入申請について

ゴードンカンファレンスにおいて16名の外国人に特別会員の入会により会員数は100名を超え、協力学術研究団体の申請が可能となったので申請することとした。

- 5. 事業計画
- 1) 第9回年会(西宮) 年会担当役員:藤原伸介氏(関西学院大学)
- 2) 第10回年会(金沢) 年会担当役員:栗原 新氏(石川県立大学)
- 3) 第11回年会(東京)年会担当役員:松藤千弥 氏(慈恵医大)
- 4)トランスグルタミナーゼ・ポリアミン合同学術集会(2018年9月24日(祝・月)~26日(水)第89回日本生化学会大会(神戸)の前後または期間中に開催するか検討することとした。
- 5) 広報活動について
- ・学会誌の発行(2回/年)
- ・学会ホームページの随時アップデート
- 以上5件が承認された。
- 6. 会計報告



# 年会報告

- 1) 平成28年度決算および監査報告
- 2) 平成29年度収支状況報告
- 3) 平成30度予算
- 以上3件が承認された。
- 7. 学会誌広告掲載に関する趣意書・申込書・企業リストついて 広告掲載のメリットを明確にしてから再度検討することとした。
- 8. その他
- 1) 第9回総会議長・副議長候補推薦

議長: 千葉大学 西村和洋氏

副議長:関西学院大学 石井友理氏

上記2名を総会の議長および副議長として推薦することとした。

以上



# 日本ポリアミン学会第9回総会議事録

日時: 平成30年1月20(金) 15:50~16:20

会場: 関西学院会館

1. 第9回総会議長・副議長の選出

議長:西村和洋氏(千葉大学)

副議長:石井友理氏(関西学院大学)

上記2名が総会の議長および副議長として選出し承認された。

2. 役員人事

第12回年会担当役員の選出

高橋 卓氏 (岡山大学) を選出し承認された。

- 3. 会則の変更
- 1) 会則第3章第4条および7条に、外国人特別会員の会則を追加する。
- 2) 会則第8章委員会を設け、第21条を追加する。
- 3) 日本ポリアミン学会企画・運営委員会規程を設ける。
- 以上3件が承認された。
- 4. 事業報告
- 1) 会員数・会費納入状況。
- 2) 学会誌の発行(ポリアミン学会誌4巻1号, 2号)
- 以上2件が承認された。
- 5. 事業計画
- 1) 第9回年会(西宮) 年会担当役員:藤原伸介氏(関西学院大学)
- 2) 第10回年会(金沢) 年会担当役員:栗原 新氏(石川県立大学)
- 3) 第11回年会(東京)年会担当役員:松藤千弥 氏(慈恵医大)
- 4) トランスグルタミナーゼ・ポリアミン合同学術集会 2018年9月24日(祝・月)~26日(水)第89回日本生化学会大会(神戸)の前後 または期間中に開催するか検討する。
- 5) 広報活動について
  - ・学会誌の発行(2回/年)
  - ・学会ホームページの随時アップデート 学会ホームページは、平成28年9月20日にリニューアルされた。
- 6) 日本学術会議協力学術研究団体への申請 今年度内に協力学術研究団体申請を行う。
- 以上6件が承認された。



# 年会報告

- 6. 会計報告
- 1) 平成28年度決算および監査報告
- 2) 平成29年度収支状況報告
- 3) 平成30度予算
- 以上3件が承認された。
- 7. 連絡事項
- 1) 開催予定の国際会議

5th International Conference on Polyamines: Biochemical, Physiological and Clinical Perspec-

tives

会期:2018年9月2日~7日

会場:台湾

オーガナイザー: Kazuei Igarashi, Enzo Agostinelli and Han-Jia Lin

2) 開催予定の国内学会および学術集会

第91回日本生化学会大会

会期:2018年9月24日(月)~26日(水)

会場:国立京都国際会館

第41回日本分子生物学会年会

2018年11月28日 (水) ~30日 (金)

会期:2018年11月28日(水)~30日(金))

会場:パシフィコ横浜

以上



### 事務連絡

学会より

○学会費の納入をお願いします

2018年度の学会費の納入をお願いいたします。会計年度は4月から1年間となっております。研究室でまとめて納入される場合は、事務局 (polyamine@jikei.ac.jp、TEL:03-3433-1111(内)2275、FAX: 03-3436-3897) まで納入者全員のお名前をお知らせください。これまでの未納分がある方は合わせてご納入ください。よろしくお願いいたします。

- 1. 会費(年額) 正会員 一般 4,000円 学生 2,000 費助会員 30,000円
- 2. 振込先 三菱東京UFJ銀行 虎ノ門支店(支店番号:041) 普通口座 0084363 日本ポリアミン学会 事務局 松藤千弥
- ○退会の届出をお願いします

卒業等でポリアミン学会を退会される方は事務局までお知らせください。既卒の方については研究室の 代表の方がまとめてご報告くださると助かります。

○5th International Conference on Polyamines: Biochemical, Physiological and Clinical Perspectivesのお知らせ

上記国際会議が2018年9月2日から7日まで台湾で開催されます。 詳細については以下の国際会議HPでご確認ください。

http://www.polyamines2018.com

○日本ポリアミン学会 第10回年会のお知らせ

会期:平成30年12月7日(金)、8日(土)

会場:石川県山中温泉(予定)

年会担当: 栗原 新 (石川県立大学) 最新情報は学会HPでご確認ください。



#### 会員数·会費納入率

平成27年度					
会員数 会費納入者 納入率					
一般	75	67	89%		
学生	11	7	64%		
賛助会員	1	1	100%		
合計	87	75	86%		

H27年度	新規入会者	退会者
一般	4	2
学生	3	6

平成28年度						
会員数 会費納入者 納入率						
一般	79	72	91%			
学生	43	37	86%			
賛助会員	1	1	100%			
合計	123	110	89%			

H28年度	新規入会者	退会者
一般	4	1
学生	33	0

平成29年度(平成30年1月11日現在)				
	会員数	会費納入者	納入率	
一般	75	55	73%	
学生	34	21	62%	
賛助会員	1	1	100%	
合計	110	77	70%	

H29年度	新規入会者	退会者
一般	8	11
学生	9	19

#### 学会収支一覧(平成30年1月11日)

平成28年度予算	平成28年度収支	平成29年度予算	平成29年度収支 (平成30年1月11日現在)	平成30年度予算
370,000	362,000	370,000	230,000	370,000
(一般×80·学生×25)	(一般×72·学生×37)	(一般×80·学生×25)	(一般×50·学生×15)	(一般×80·学生×25)
30,000	30,000	30,000	30,000	30,000
(1社)	(コンビ株式会社様)	(1社)	(コンビ株式会社様)	(1社)
			226,360	
1,600,000	1,620,987	1,600,000	1,877,591	1,800,000
	14		8	
2,000,000	2,013,001	2,000,000	2,363,959	2,200,000
50,000	24,780	50,000	0	50,000
30,000	29,660	50,000	24,124	50,000
10,000	1,106	10,000	2,230	10,000
150,000	79,000	150,000	100,000	150,000
0	0	420,000	140,000	0
			162,000	32,400
	864		2,430	
1,760,000	1,877,591	1,320,000	1,933,175	1,940,000
2,000,000	2,013,001	2,000,000	2,363,959	2,200,000
	370,000 (一般×80·学生×25) 30,000 (1社) 1,600,000 2,000,000 50,000 30,000 10,000 0	370,000 362,000 (一般×80・学生×25) (一般×72・学生×37) 30,000 30,000 (1社) (コンビ株式会社様)  1,600,000 1,620,987 14 2,000,000 2,013,001 50,000 24,780 30,000 29,660 10,000 1,106 150,000 79,000 0 0 864 1,760,000 1,877,591	370,000 362,000 370,000 (一般×80・学生×25) (一般×72・学生×37) (一般×80・学生×25) 30,000 30,000 30,000 (1社) (コンビ株式会社様) (1社) (コンビ株式会社様) (1社) 2,000,000 2,013,001 2,000,000 30,000 30,000 14 20,000,000 1,106 10,000 150,000 150,000 150,000 150,000 150,000 150,000 150,000 150,000 150,000 150,000 150,000 1,760,000 1	平成28年度で身 平成28年度収文 平成29年度で身 (平成30年1月11日現在) 370,000 362,000 370,000 230,000 (一般×80・学生×25) (一般×72・学生×37) (一般×80・学生×25) (一般×50・学生×15) 30,000 30,000 30,000 30,000 30,000 (1社) (コンビ株式会社様) (1社) (コンビ株式会社様) (1社) (コンビ株式会社様)  1,600,000 1,620,987 1,600,000 1,877,591 4 8 2,000,000 2,363,959 5 50,000 24,780 50,000 24,124 10,000 1,106 10,000 2,230 150,000 100,000 150,000 100,000 150,000 100,000 150,000 100,000 140,000 150,000 140,000 162,0

単位:円

H28年度支出 年会・国際学会等補助内訳:第8回年会補助 29,000円 + TGase研究会との学術集会補助 50,000円 H29年度収入 その他 内訳: HP作成寄付 126,369円 + ポリアミン学会誌広告収入1件 100,000円

H29年度支出 広報費 内訳: HP作成費 129,600円 + HP年間維持費32,400円



# 役員・事務局・委員会・賛助会員

#### 評議員

五十嵐 一衛 (アミンファーマ研、千葉大)

大島 泰郎 (共和化工)

大澤 仲昭 (藍野大学)

岡孝己 (湧永製薬)

柏木 敬子 (千葉科学大)

河合 剛太 (千葉工大)

川喜田 正夫 (都医学研)

草野 友延 (東北大学)

塩川 光一郎 (帝京大)

白幡 晶(城西大)

鈴木 秀之(京都工繊大)

早田 邦康(自治医大)

松藤 千弥 (慈恵医大)

村井 法之(慈恵医大)

#### 事務局

事務局長 松藤 千弥(慈恵医大) 総務担当 村井 法之(慈恵医大) 会計担当 大城戸 真喜子(慈恵医大) 広報担当 小黒 明広(慈恵医大)

#### 企画・運営委員会

植村 武史 (アミンファーマ研)

大城戸 真喜子 (慈恵医大)

小黒 明広 (慈恵医大)

栗原 新 (石川県立大)

照井 祐介(千葉科学大)

西村 和洋 (千葉大)

根本 直樹 (千葉工大)

東 恭平 (千葉大)

松本 光晴 (協同乳業)

松本 靖彦 (帝京大学)

南澤 麿優覽(千葉工大)

村井 法之(慈恵医大)

森屋 利幸(共和化工)

#### 日本ポリアミン学会賛助会員

コンビ株式会社



# 企画・運営委員会 活動報告

#### 平成29年度 企画・運営委員会 活動報告

○2017年5月に第1回 企画会議(参加者;植村、大城戸、小黒、栗原、照井、西村、根本、東、松本 光、松本靖、南澤、村井、森屋)、2017年11月に第2回 企画会議(参加者:植村、大城戸、小黒、栗 原、照井、西村、根本、東、松本靖、村井、森屋)を開催し、学会の活性化を目的に以下の企画を提 案・実行した。

- ・外国人特別会員の新設について提案した。
- ・企画・運営委員会の会則案を作成し、評議員会へ提出した。
- ・第9回年会での招待講演の提案・招聘を行った。
- ・学会員以外のポリアミン研究者に対し第9回年会への参加勧誘を行った。
- ○委員会内に以下の作業部会を設置し、継続的な活動を行った。 (\*=責任者)

国際会議準備(\*植村、照井、西村、松本靖、村井) 外国人特別会員の勧誘をゴードン会議で行った。 日本学術会議 協力学術研究団体への申請作業を行った(2017年3月に申請)。

学会誌編集(\*小黒、植村、大城戸、照井、松本靖、森屋) 2017年4月に学会誌Vol.4 No.1を発行した。 2017年11月に学会誌Vol.4 No.2を発行した。

学会ホームページ (\*根本、小黒、栗原、西村) 2017年9月に学会ホームページをリニューアルした。 学会ホームページの更新・運営作業を行った。

広告(\*松本靖、大城戸、東)

学会誌広告の募集要項を作成し、企業への募集を開始した。 学会誌Vol.4 No.2に広告 1 件を掲載した。





今年の冬は日本各地で雪が降りました。積もった雪ももう溶けて、桜の花が咲いています。季節が変わり、新学期が始まりました。新学期になり色々と環境が変わり新しい出会いがあると思います。

本号の巻頭言は、塩川先生にお願いいたしました。五十嵐先生とポリアミンの話をしたことが塩川先生のポリアミンの研究の始まりであったとのことでした。塩川先生が出会いを大切にして、自身の研究について常に考えながら他者の意見に耳を傾けていることがわかる印象的なエピソードだと思いました。「分子生物学の教科書におけるポリアミン・サイエンスの占めるスペースが小さい」というご意見はその通りで、一般的な分子生物学の教科書では、ポリアミンの生理活性について詳細には記載されていないと思います。例えば20年後の分子生物学の教科書ではどうなっているのでしょうか。ポリアミンの項目があり、詳細な説明があるでしょうか。

本号では、安元先生らや酒井先生らの総説でポリアミンが関与する新しいシステムの発見について説明していただきました。日本ポリアミン学会の会員だけでなく基礎生物学者においてとても興味深い内容であると思います。学会誌「ポリアミン」の編集に携わりポリアミン研究の色々な総説を読ませて頂いて、20年後にはポリアミンが重要な生理活性物質として認識されているのではないかと思いました。おそらくポリアミンの項目はないと思いますが、教科書の全編にポリアミンが登場するのではないかと期待してしまいました。

将来的にはポリアミン研究者達が一丸となってポリアミンのスペースが大きいポリアミンを中心に据えた分子生物学の教科書を書いたらいいのではないかと思いました。そのためには多くの研究者が多角的にポリアミン研究を展開して基礎生物学における新しい概念を打ち立てていくことが重要であると思います。我々編集者たちは、多くの研究者がポリアミンに興味を持つように、より意義深い学会誌にしていくことを重要な課題としております。より良い学会誌になるように、読者の皆様の忌憚ないご意見をお待ちしております。学会誌「ポリアミン」を読んでポリアミン研究に参入する研究者達との出会いを大切にしていけたらと思います。

(ポリアミン学会誌編集委員会 委員 松本靖彦)

<ポリアミン学会誌編集委員会>

委員長 小黒明広(慈恵医大)

委員 大城戸真喜子(慈恵医大)

植村武史(アミンファーマ研)

照井祐介 (千葉科学大)

松本靖彦(帝京大)

森屋利幸 (共和化工)

### 日本ポリアミン学会 学会誌「ポリアミン」 第5巻1号(2018年4月)

発行:日本ポリアミン学会

http://pa.umin.jp/

polyamine@jikei.ac.jp

製作:日本ポリアミン学会 企画・運営委員会



### 「好適環境水」とは

888888



効率的な魚類飼育を目的として、 成分や濃度を調整した

### 人工飼育水

#### 好適環境水の利点

- 1. 低コスト
- 2. 淡水・海水魚ともに飼育可能
- 3. 飼育魚の病気抑制効果
- 4. 飼育魚の成長促進効果

# 干葉科学大学 研究ブランディング構想

「好適環境水」による次世代型水産技術イノベーション



好適環境水 リサーチセンター









### 研究開発

- 好適環境水を利用した 次世代型陸上養殖技術の開発
- 好適環境水等を利用した 新たな鮮魚・活魚輸送及び 鮮魚加工の開発

### 産業推進

- 好適環境水を利用した次世代型陸上養殖事業の提案
- 新たなブランド魚種の創出による 地元水産業のインフラの強化

新しい地域水産業の促進

大学ブランディング



# 教育

#### 人材育成

- 水産資源や養殖、加工技術、 HACCP等に関する講演会の実施
- ープンラボや施設見学会の実施

### 情報発信・収集

- HPやフォーラムによる研究概要・
  - 成果の紹介、各イベントの告知
- ニーズの把握とシーズの提供を 目的とした定例意見交換会の実施

未来の水産業を 担う人材を地域で育てる



あなたの研究をお手伝いします!

「研究機器オンライシ」に続き 受託オンライン」をオープン!!

製品情報の充実 随時、追加・更新を 行っております。

HPトップバナーから



気になる

ワードで検索!





#### 受託オンラインの特徴

- ・遺伝子発現解析や抗体作製からスクリーニング、 標本作製まで幅広い受託サービスを掲載。
- 研究用途から受託サービス検索
   ・ 遺伝子工学、シーケンス解析、タンパク質工学などのカテゴリー検索!
- ・キャンペーン情報の確認も可能
- •あのメーカーの受託サービスを … フリーワード検索やメーカーの絞り込み検索も可能!



薬研社の研究機器オンライン・受託オンラインは、 PC、スマートフォンやタブレット端末からアクセス!

WEBサイト 随時更新中 http://www.yakukensha.co.jp 薬研社 検索





研究機器オンラインの特徴

・予算申請の金額に合わせた検索もラクラク! • 予算由請に便利・・ 指定範囲の金額で検索が可能に! • あのメーカーの製品を … フリーワード検索やメーカーの絞り込み検索も可能!

・研究用途に合わせた検索もラクラク!

株式会社 菜 研 社 YAKUKENSHA CO., LTD.